

# UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA  
Departamento de Biología Vegetal II



## TESIS DOCTORAL

**Filogenia del género *Scirpoides* Ség. (Clado *Ficinia*, Cyperaceae):  
habitat de los taxones europeos y su conservación**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Ana Isabel Sánchez García-Madrid**

Directores

Paloma Cantó Ramos  
José Antonio Molina Abril

**Madrid, 2015**

**FILOGENIA DEL GENERO *SCIRPOIDES* SÉG. (CLADO *FICINIA*,  
CYPERACEAE). HABITAT DE LOS TAXONES EUROPEOS Y SU  
CONSERVACION**

---

**Phylogeny of the genus *Scirpoides* Ség. (*Ficinia* clade, Cyperaceae).  
Habitat of the European taxa and its conservation**

**Ana Isabel Sánchez García-Madrid**  
**Tesis Doctoral - 2015**









**Cover layout and paint: Ana Isabel Sánchez García-Madrid**



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**Departamento de Biología Vegetal II**

**FILOGENIA DEL GENERO *SCIRPOIDES* SÉG.  
(CLADO *FICINIA*, CYPERACEAE). HABITAT DE  
LOS TAXONES EUROPEOS Y SU  
CONSERVACION**

---

**Phylogeny of the genus *Scirpoides* Ség. (*Ficinia* clade,  
Cyperaceae). Habitat of the European taxa and its conservation**

**Memoria de Tesis Doctoral presentada por  
Ana Isabel Sánchez García-Madrid para optar al grado de Doctor**

Con la autorización de sus Directores de Tesis:

**Dra. Paloma Cantó Ramos**

**Dr. José Antonio Molina Abril**

Profesores titulares del Dpto. de Biología Vegetal II, Fac. Farmacia (UCM)  
Madrid, Marzo de 2015

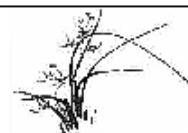


a Álvaro,

a Claudia

y a mi familia, tanto biológica como política





## Índice / Index

<b>Agradecimientos / Acknowledgments</b>	3
<b>Resumen / Abstract</b>	5
<b>Introducción general / General introduction</b>	17
<b>Objetivos y estructura / Aims and structure</b>	27
<b>Capítulo 1:</b>	33
La clasificación de los hábitats destaca las prioridades para las políticas de conservación: El caso de los prados húmedos mediterráneos de hierbas altas españoles. <i>Journal for Nature Conservation</i> 22, 142–156 (2014).	
<b>Chapter 1:</b> Classification of habitats highlights priorities for conservation policies: The case of Spanish Mediterranean tall humid herb grasslands.	
<b>Capítulo 2:</b>	51
Factores ambientales que influyen la diversidad vegetal en los prados húmedos mediterráneos de hierbas altas de <i>Scirpoides holoschoenus</i> (L.) Soják. <i>Plant Ecology</i> (manuscript).	
<b>Chapter 2:</b> Environmental factors influencing plant diversity in the Mediterranean tall humid grasslands of <i>Scirpoides holoschoenus</i> (L.) Soják.	
<b>Capítulo 3:</b>	71
Diversidad y clasificación de los prados húmedos mediterráneos de hierbas altas de <i>Molinio-Holoschoenion</i> en Europa. <i>Applied Vegetation Science</i> (submitted).	
<b>Chapter 3:</b> Diversity and classification of Mediterranean tall humid herb grasslands ( <i>Molinio-Holoschoenion</i> ) in Europe.	



## Capítulo 4:

103

Hacia la resolución de las relaciones filogenéticas en el clado *Ficinia* y descripción del nuevo género *Afroscirpoides*. *Taxon* (in press, 2015).

**Chapter 4:** Towards resolving phylogenetic relationships in the *Ficinia* clade and description of the new genus *Afroscirpoides* (Cypereae, Cyperaceae).

**Discusión integradora / General discussion** 155

**Conclusiones / Conclusions** 167

**Referencias bibliográficas / References** 173

**Otros trabajos relacionados con la Tesis / Other manuscripts related with the Dissertation** 181

**Apéndice 1 / Appendix 1:** Diversidad de las praderas juncuales de Junco Churrero (*Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják) en el tramo medio de la cuenca del Tajo. 183

**Apéndice 2 / Appendix 2:** Relaciones entre los parámetros físico-químicos del suelo y la vegetación en juncuales de *Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják. *Lazaroa*, 31: 99–107 (2010). 215

**Apéndice 3 / Appendix 3:** Búsqueda de marcadores moleculares de utilidad filogenética en el género *Scirpoides* Ség.(Cyperaceae): el grupo *S. holoschoenus* (L.) Soják como caso de estudio. 227



## Agradecimientos / Acknowledgements

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada gracias a una Beca Predoctoral FPI-UCM (convocatoria de 2010).

Durante los cuatro años de duración de la ayuda muchas han sido las situaciones que he atravesado, tanto buenas como malas, pero he de decir que el balance general es muy positivo, especialmente por la compañía. Son muchas las personas a las que tengo que agradecer así que trataré de ser lo más breve posible.

En primer lugar, a **mis directores, Paloma y José Antonio**, por creer siempre en mí y apoyarme en todo momento, por invertir su tiempo y esfuerzo en la supervisión y revisión de esta tesis, por todo lo que me han enseñado a nivel científico y personal y por esas largas jornadas de campo que hemos compartido. Paloma, sin tu apoyo y tenacidad nunca hubiese podido conseguir la beca; tú me captaste para que entrase en el departamento y desde entonces has estado siempre pendiente de que no me faltase nada para seguir adelante. José Antonio, tú fuiste el que propuso estudiar juncales y ha resultado ser un tema todavía más apasionante de lo que pudiera parecernos en un primer momento; al final no sólo hemos cumplido plazos sino que te has salido con la tuya y tu cuarta doctoranda lee la tesis "con un buen bombo".

A **Inés Álvarez**, del **Real Jardín Botánico**, por ser prácticamente como una tercera directora en la sombra, por tus valiosos comentarios y por tener siempre una sonrisa. Sin ti, todo el estudio filogenético no hubiese sido posible. No se me olvidan tampoco **Alberto, Eva, Alicia, Pedro** (y muchos otros) que han hecho siempre tan agradables mis visitas al jardín.

Many thanks to Prof. **Muthama Muasya** for giving me the opportunity of visiting him in **Cape Town University**. Those two months were essential not only for the development of my studies but also for my personal way of understanding life. Since I came back to Madrid I can't stop repeating that I want to revisit South Africa. I would also like to thank all those people that I met during my stay in Cape Town: **Santi, Tracey, Serena, Abu, Ntwai, Benny, Dr. Chimphango** and so many others.

A **Carla Pinto-Cruz** y **Ana Lumbreras** por acogerme en el ICAAM (**Universidade de Évora**) de forma tan precipitada. Vuestros puntos de vista han sido muy importantes para el capítulo de relación suelo-vegetación. También me quedo con esos buenos momentos juntas y con "algún que otro incidente" en determinados supermercados portugueses.

Al **Departamento de Biología Vegetal II** y sus profesores por permitirme llevar a cabo mi trabajo de investigación disponiendo de todos los recursos necesarios para su realización.

A **mis compañeros** del departamento, jóvenes doctores y protoctores, por todos esos buenos ratos que hemos pasado juntos. A **Elena Castoldi** por compartir nuestro sitio desde el principio, así como por todas nuestras aventuras (no siempre con el final que nos hubiese gustado), especialmente en los análisis de suelos. A **Alberto Benavent**, por ser tan cercano y compartir nuestras experiencias cotidianas del día a día (especialmente desde que nos quedamos casi solos en el herbario). A **Zu** (nuestra matrona del





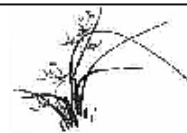
Departamento), **Tino** (el alma de la juventud del Departamento), **Bea Roca** (siempre nos das tus puntos de vista más sinceros), **Celia** (desde que te fuiste al Departamento le falta alegría), **Mer** (la chica más trabajadora que he conocido nunca), **Jovi** (me encanta verte siempre tan sonriente y contenta), **Alba** y **Guille** (que todas vuestras ilusiones se cumplan, especialmente ahora que sois papis), **Bea Vilches** (tú siempre eres muy cariñosa con todos), **David** (nos aportas tu lado más friki), **Carlos** (siempre tienes una conversación muy interesante), **Jano** y **Mª José** (se os echa mucho de menos), **Pepe** e **Inma** (por esos ratos en la sala de personal en los que nos contáis cosas tan interesantes), **Clara** (compañera freedoniana), **Elena** (nuestra última incorporación). Si me dejo a alguien son los nervios del momento, no os lo toméis a mal, por favor.

A todos los miembros **FitoSolum**, de los Departamentos de Botánica, Edafología y Microbiología. Mi tesis comenzó siendo un proyecto de investigación del grupo en el que participasteis todos. Las salidas al campo que hemos hecho juntos han sido muy divertidas.

A todo el **Departamento de Edafología** de la Facultad de Farmacia, por permitirme hacer los análisis de suelos en su laboratorio. En especial a **José Ramón**, por ser una pequeña enciclopedia andante del análisis de suelos y por tener tanta paciencia con los jóvenes; y a **Miguel Ángel**, que como sé que tu número es el tres te diré que Álvaro y yo nos quedamos a tres meses de ser tres.

Por último, y en un lugar muy importante, a mis **amigos** y **familia**, tanto biológica como política (que es ya tan importante como la biológica). A mis padres, **Fernando** y **Nieves**, y a mis suegros, **César** y **Carmen**, por apoyarme y no pensar que todo esto de “una tesis de juncos” era una tontería. A mi hermano, **Fernando** y a mi cuñada **Sofía**, con los que espero poder compartir más tiempo libre a partir de ahora. A mi tía **Rosi** por nuestras meriendas de los miércoles contra el estrés.

Y a **Álvaro**, por escucharme en los buenos y malos momentos, por saber aconsejarme en cada caso, por compartir su día a día conmigo y, sobre todo, por ser el padre de nuestra hija, **Claudia**, a la que ya tenemos muchas ganas de conocer.



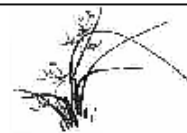
## FILOGENIA DEL GENERO *SCIRPOIDES* SÉG. (CLADO *FICINIA*, CYPERACEAE). HABITAT DE LOS TAXONES EUROPEOS Y SU CONSERVACION

### Introducción

*Scirpoides* Ség. es un género de la familia Cyperaceae que, deriva del amplio género *Scirpus* L., del que se diferencia morfológica y molecularmente (Séguier, 1754; Pignotti, 2003; Muasya et al., 2009a). Este género ha estado sometido a una considerable confusión en la literatura, ya que el número de especies reconocidas y la asignación de subespecies varían en función de los autores, no existiendo un consenso general. De todas las especies reconocidas en las diferentes clasificaciones, *Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják es el taxon que presenta mayor variabilidad infraespecífica. En concreto, la cuenca del Mediterráneo *sensu lato* (s.l.), alberga gran diversidad (Maire, 1957; Pignatti, 1982; Castroviejo et al., 2008).

Las especies del género *Scirpoides* muestran una distribución dicotómica entre el hemisferio norte y el hemisferio sur. En el hemisferio sur, más concretamente en el sur de África y la región florística del Cabo, se localiza el centro de diversidad del género, mientras que en el hemisferio norte se distribuye el complejo *S. holoschoenus* (i.e., *S. holoschoenus*, *S. globifera* (L.f.) Soják), que abarca toda la cuenca del Mediterráneo, desde la Península Ibérica hasta Turquía e Irán, alcanzando el sur de Inglaterra por el norte y el norte de Marruecos por el sur (Tutin et al., 1964-1980; Kukkonen, 1998). El complejo *S. holoschoenus* ha sido estudiado morfológicamente por muchos autores, pero hasta ahora no existe ningún estudio morfológico ni filogenético que incluya todas las especies del género *Scirpoides*.

Desde un punto de vista ecológico, *S. holoschoenus* es una de las especies dominantes del hábitat conocido como "Prados Húmedos de Hierbas Altas de *Molinio-Holoschoenion*" en el Manual de Interpretación de los Hábitats de la Unión Europea (EC, 2013; Código 6420). Este hábitat (*Molinio-Holoschoenion*) consiste en juncuales de *S. holoschoenus* y herbazales y pastos altos de *Molinia arundinacea* Schrank y *Schoenus nigricans* L. entre otras hierbas higrófilas. Se trata de un hábitat seminatural de origen antrópico con óptimo Mediterráneo y relacionado con el afloramiento de aguas subterráneas (Tchou, 1948). En Europa, *Molinio-Holoschoenion* se encuentra



en todos los países que tienen clima Mediterráneo aunque muestra su mayor diversidad y extensión en la Península Ibérica (Rivas-Martínez et al., 2011).

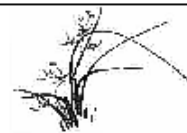
Desde un punto de vista edáfico, *Molinio-Holoschoenion* se desarrolla sobre suelos no salinos o ligeramente salinos (Braun-Blanquet & Bolós, 1957). Aunque la alianza presenta una predilección por suelos de carácter basófilo, donde se puede encontrar mayor diversidad de comunidades vegetales (Braun-Blanquet et al., 1952), también puede distribuirse en suelos de carácter silicícola (Rivas-Martínez et al., 2011), donde pese a tener menor diversidad alcanza gran extensión.

Desde un punto de vista florístico, los prados de *Molinio-Holoschoenion* presentan similitudes con otros sintaxones tales como *Juncion maritimi*, *Caricion davallianae*, *Brachypodion phoenicoidis* o *Magnocaricion*, con los que no se encuentra bien delimitado y a veces puede solapar en la forma de comunidades de transición (Braun-Blanquet et al., 1952). Esto hace que los límites de la alianza *Molinio-Holoschoenion* varíen en función de los autores, no existiendo hasta el momento una definición clara del hábitat.

Desde un punto de vista evolutivo, el género *Scirpoides*, junto con otros géneros segregados de *Scirpus*, han sido transferidos desde la tribu Scirpeae a la tribu Cypereae, constituyendo el clado *Ficinia* (Muasya et al., 1998; 2001; 2009a,b), hermano del clado *Cyperus*. El clado *Ficinia* en un primer momento comprendía cuatro géneros: *Ficinia* Schrad., *Isolepis* R.Br., *Scirpoides* Ség., and *Hellmuthia* Steud. (Muasya et al., 2009b). Recientemente se han incluido también los géneros *Dracoscirpoides* Muasya y *Erioscirpus* Palla (Muasya et al., 2012; Yano et al., 2012). Los géneros del clado *Ficinia* se caracterizan por presentar morfología ficinioide (hierbas perennes amacolladas, inflorescencia pseudolateral, bráctea inferior erecta y semejante al tallo, flores bisexuales) y embrión de tipo *Cyperus* o *Ficinia* (Van der Veken, 1965; Muasya et al., 2009b). Cabe destacar que todos los géneros del clado crecen en clima Mediterráneo.

## Objetivos y Métodos

El objetivo principal de esta Tesis Doctoral es el estudio filogenético y ecológico del género *Scirpoides* Ség. En el estudio filogenético se han incluido todas las



especies del género *Scirpoides* así como todos aquellos géneros que mostraron afinidad en estudios previos (clado *Ficinia*). Para el estudio ecológico, se han considerado las especies que se encuentran en la cuenca del Mediterráneo, focalizándose especialmente en la Península Ibérica para el análisis del interés para la conservación y la relación entre la composición florística de las comunidades de *Scirpoides* y los factores ecológicos, tales como las propiedades físico-químicas del suelo y los factores climáticos. Se ha estudiado también la biodiversidad de las comunidades vegetales dominadas por *Scirpoides* a nivel Europeo, permitiendo re-evaluar la definición del hábitat en el que se engloban estos juncuales (Prados húmedos de hierbas altas de *Molinio-Holoschoenion*).

## Resultados y Discusión

El estudio filogenético del género *Scirpoides* mostró que dicho género es monofilético y está integrado por un total de cinco especies: *S. holoschoenus*, *S. globifera*, *S. thunbergii* (Schrad.) Soják, *S. varia* Browning y *S. burkei* (C.B. Clarke) Goetgh., Muasya & D.A. Simpson. Dichas especies se dividen en dos grupos que se distribuyen el primero en el sur de África (*S. thunbergii*, *S. varia* y *S. burkei*) y el segundo en el norte de África y la cuenca del Mediterráneo (*S. holoschoenus* y *S. globifera*). En contraste con otras clasificaciones previas del género, basadas principalmente en datos morfológicos, nuestros datos elevan a la categoría de especie a *S. globifera* y *S. thunbergii*.

En el caso de *S. globifera*, esta especie se distribuye únicamente en las Islas Canarias y el norte de Marruecos, donde puede considerarse vicariante de *S. holoschoenus*, dado que ambas especies se encuentran en el mismo hábitat (*Molinio-Holoschoenion*). El norte de Marruecos representa la única zona donde hemos encontrado poblaciones en las que ambas especies (*S. globifera* y *S. holoschoenus*) coexisten (pers. obs.). En el caso de *S. thunbergii*, nuestros resultados moleculares han mostrado una mayor proximidad de esta especie hacia las especies de *Scirpoides* presentes en el sur de África (*S. varia* y *S. burkei*) que hacia *S. holoschoenus*, del cual se ha considerado hasta la actualidad como subespecie.

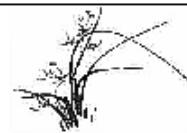


En el estudio filogenético, una de las especies tradicionalmente incluidas en el género *Scirpoides* (*S. dioeca* (Kunth) Browning) se separó del resto de muestras del género formando un clado monofilético claramente diferenciado y con un soporte alto en todos los análisis. Morfológicamente, esta especie muestra afinidad con las especies de *Scirpoides* s.str. pero, a la vez, tiene caracteres únicos como, por ejemplo, las glumas agudas con mucrón subapical o la bráctea inferior punzante que siempre sobrepasa la inflorescencia. En base a eso, proponemos un género nuevo (*Afroscirpoides* García-Madrid & Muasya) para incluir esta especie (*Afroscirpoides dioeca* (Kunth) García-Madrid).

De acuerdo con nuestros resultados, el complejo *S. holoschoenus* queda integrado por únicamente dos subespecies: subsp. *holoschoenus* y subsp. *australis*. Los datos moleculares sugirieron que pese a la proximidad entre ambos taxones sí existe una diferenciación entre *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* y *S. holoschoenus* subsp. *australis*. Por otro lado, el estudio de la ecología de *S. holoschoenus* s.l. mostró que *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* está presente en áreas de interior fundamentalmente en suelos arcillosos y/o limosos con clima termo-, meso- o supramediterráneo mientras que *S. holoschoenus* subsp. *australis* se encuentra únicamente en dunas estacionarias con sustratos arenosos de pH ácido o básico y clima termomediterráneo o Templado sub-Mediterráneo, siempre limitándose a las costas.

De acuerdo con la redefinición de *Molinio-Holoschoenion* propuesta en esta Tesis, dicha alianza está limitada al clima Mediterráneo y se divide en tres unidades de vegetación: la primera constituida por las comunidades de *S. nigricans* (Subgrupo 1), la segunda integrada los juncuales de *Juncus acutus* L. y *Juncus maritimus* Lam. (Subgrupo 2) y la tercera formada por el núcleo de *Molinio-Holoschoenion* (Subgrupo 3). A su vez, el tercer subgrupo está integrado por los pastos húmedos de *M. arundinacea*, juncuales de *S. holoschoenus* y un conjunto de pastos dominados por diferentes especies cuya característica común es crecer en el hábitat de *Molinio-Holoschoenion*.

A nivel de la Península Ibérica, el análisis del interés para la conservación de las comunidades dominadas por *Scirpoides* estableció un ranking de prioridad basado en tres criterios (responsabilidad regional, rareza local y vulnerabilidad del hábitat), en

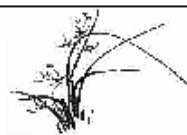


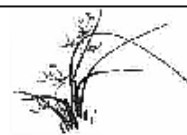
el que los juncles subsalinos de las Islas Canarias y los juncles y herbazales de márgenes de ríos oligotróficos ocupan las primeras posiciones. Nuestros resultados revelaron que el mayor contenido en especies amenazadas se encuentra en los juncles subsalinos mientras que los pastos sobre suelos básicos albergan el mayor número de especies vulnerables. Este estudio mostró que dicho hábitat no puede ser considerado como un bloque homogéneo en términos de conservación. Las comunidades tipo que ocupan las primeras posiciones de nuestro ranking de priorización deben interpretarse como las que necesitan mayor protección. Dichas comunidades se caracterizan por desarrollarse en condiciones ambientales constreñidas (e.g. dunas, serpentinas, suelos subsalinos) o territorios restringidos.

A escala regional (Península Ibérica), el índice de Continentalidad y el índice de Mediterraneidad fueron los principales factores climáticos latentes que separaron la vegetación dominada por *S. globifera* de la de *S. holoschoenus*, mientras que, por otro lado, los suelos arenosos mostraron estar asociados a *S. holoschoenus* subsp. *australis*. En el caso de *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*, nuestros análisis mostraron que factores edáficos como la textura arcillosa, el pH, el sodio y el magnesio son los principales condicionantes que explican la variabilidad florística. Este análisis también destaca el contenido de agua del suelo como factor relevante en nuestros datos, por lo que se puede inferir que ambos factores, composición geoquímica del suelo y régimen de humedad, son los principales condicionantes de la vegetación de *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*.

## Conclusión general

En esta Tesis Doctoral se ha realizado un estudio completo del género *Scirpoides* tanto a nivel filogenético como a nivel ecológico, florístico y de interés para la conservación de las especies Europeas. Dentro del género *Scirpoides* se reconocen cinco especies mientras que el complejo *S. holoschoenus* queda reducido a dos subespecies. El hábitat de las especies Europeas (*Molinio-Holoschoenion*) está compuesto por tres subgrupos en función de las especies dominantes y las comunidades que lo integran presentan diferencias respecto a su interés para la conservación. Factores climáticos y edáficos diferencian la vegetación dominada por *S. globifera* de la de *S. holoschoenus* s.l.





## PHYLOGENY OF THE GENUS *SCIRPOIDES* SÉG. (*FICINIA* CLADE, CYPERACEAE). HABITAT OF THE EUROPEAN TAXA AND ITS CONSERVATION

### Introduction

*Scirpoides* Ség. is a genus of family Cyperaceae, derived from the larger genus *Scirpus* L., with which it has morphological and molecular differences (Séguier, 1754; Pignotti, 2003; Muasya et al, 2009a.). This genus has been subjected to a considerable confusion in the literature, since the number of recognized species and subspecies vary according to the authors, without a general consensus. Of all the species recognized in the different classifications, *Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják is the taxon that shows greater infraspecific variability. Specifically, the Mediterranean basin *sensu lato* (s.l.) hosts a high diversity (Maire, 1957; Pignatti, 1982; Castroviejo et al., 2008).

*Scirpoides* species show a dichotomic distribution between the northern and the southern hemisphere. In the southern hemisphere, specifically in South Africa and the Cape floristic region, is located the center of diversity of the genus, while in the northern hemisphere is distributed the *S. holoschoenus* complex (i.e., *S. holoschoenus*, *S. globifera* (L.f.) Soják), which covers the entire Mediterranean basin, from the Iberian Peninsula to Turkey and Iran, reaching southern England in the north and the north of Morocco in the south (Tutin et al., 1964-1980; Kukkonen, 1998). The *S. holoschoenus* complex has been studied morphologically by many authors, but so far there is no morphological and phylogenetic study including all the species of genus *Scirpoides*.

From an ecological perspective, *S. holoschoenus* is one of the dominant species of the habitat known as "Tall Humid Herb Grasslands of *Molinio-Holoschoenion*" in the Interpretation Manual of European Union Habitats (EC, 2013; Code 6420). This habitat (*Molinio-Holoschoenion*) consists of rushes of *S. holoschoenus* and grasslands and tall grasses of *Molinia arundinacea* Schrank and *Schoenus nigricans* L. among other hygrophilous herbs. It is a Mediterranean semi-natural habitat type of anthropogenic origin related to outflows of groundwater (Tchou, 1948). In Europe, *Molinio-Holoschoenion* is found in all the countries with





Mediterranean climate but shows its greatest diversity and extension in the Iberian Peninsula (Rivas-Martínez et al., 2011).

From an edaphic perspective, *Molinio-Holoschoenion* grows on non-saline or slightly saline soils (Braun-Blanquet & Bolós, 1957). Although the alliance has a predilection for base-rich soils, where a greater diversity of plant communities can be found (Braun-Blanquet et al., 1952), it can also grow on base-poor soils (Rivas-Martínez et al., 2011) where despite having less diversity it reaches large areas.

From a floristic perspective, *Molinio-Holoschoenion* grasslands have similarities with other syntaxa such as *Juncion maritimi*, *Caricion davallianae*, *Brachypodium phoenicoidis* or *Magnocaricion*, with which it is not well delimited and can sometimes overlap in the form of transitional communities (Braun-Blanquet et al., 1952). Because of this, the limits of alliance *Molinio-Holoschoenion* vary according to the authors, without the existence of a clear definition of the habitat so far.

From a phylogenetic perspective, genus *Scirpoides*, along with other genera segregated from *Scirpus*, have been transferred from tribe Scirpeae to tribe Cypereae, constituting the *Ficinia* clade (Muasya et al., 1998; 2001; 2009a,b), sister to the *Cyperus* clade. The *Ficinia* clade was initially composed by four genera: *Ficinia* Schrad, *Isolepis* R.Br., *Scirpoides* Ség., and *Hellmuthia* Steud. (Muasya et al., 2009b). Recently, two other genera have been included: *Dracoscirpoides* Muasya and *Erioscirpus* Palla (Muasya et al., 2012; Yano et al., 2012). All *Ficinia* clade genera share ficinioid morphology (i.e., predominantly tufted perennial herbs, inflorescence pseudolateral, lowermost primary bract erect and stem-like, flowers bisexual), and a *Cyperus* type or *Ficinia*-type embryo (Van der Veken, 1965; Muasya et al., 2009b). It is noteworthy that the clade shows a predominantly Mediterranean-climate distribution.

## Aims and Methods

The aim of this Doctoral Thesis is the study of the phylogeny and ecology of the genus *Scirpoides* Ség. The phylogenetic study included all the species of the genus *Scirpoides* and all those genera which showed affinity in previous studies (*Ficinia* clade). For the ecological study, we have considered the species distributed through



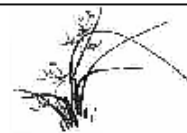
the Mediterranean basin, especially focusing on the Iberian Peninsula for the analyses of the conservation interest of the communities and the relationship between the floristic composition of *Scirpoides* communities and the ecological factors such as physico-chemical properties of the soils and climatic factors. The biodiversity of the plant communities dominated by *Scirpoides* has also been studied at the European level, allowing a re-evaluation of the definition of the habitat in which these rush meadows are grouped (Tall humid herb grasslands of *Molinio-Holoschoenion*).

## Results and Discussion

The phylogenetic study of genus *Scirpoides* showed that this genus is monophyletic and consists of a total of five species: *S. holoschoenus*, *S. globifera*, *S. thunbergii* (Schrad.) Soják, *S. varia* Browning and *S. burkei* (C.B. Clarke) Goetgh., Muasya & D.A. Simpson. These species are divided into two groups: the first distributed in southern Africa (*S. thunbergii*, *S. varia* and *S. burkei*) and the second in northern Africa and the Mediterranean basin (*S. holoschoenus* and *S. globifera*). In contrast to other previous classifications of the genus based mainly on morphological data, our data raise the category of *S. globifera* and *S. thunbergii* to the species level.

In the case of *S. globifera*, this species is distributed only in the Canary Islands and northern Morocco, and can be considered vicariant with *S. holoschoenus*, since both species are found in the same habitat (*Molinio-Holoschoenion*). Northern Morocco represents the only area where small populations with both species (*S. globifera* and *S. holoschoenus*) can be found (pers. obs.). In the case of *S. thunbergii*, our molecular results showed a closer relationship of this species to the species of *Scirpoides* present in southern Africa (*S. varia* and *S. burkei*) than to *S. holoschoenus*, of which has been considered until now as a subspecies.

In the phylogenetic study, one of the species traditionally included in genus *Scirpoides* (*S. dioeca* (Kunth) Browning) was split from the rest of the samples of the genus constituting a different clade which was monophyletic and highly supported in all the analyses. Morphologically, this species shares some traits with *Scirpoides s.str.* species but also has unique characters (i.e., broadly acute glumes with sub-apical mucro, spiny bract that always surpasses the inflorescence). Therefore, a new genus

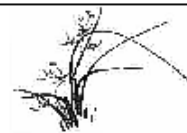


(*Afroscirpoides* García-Madrid & Muasya) is here proposed to include this species (*Afroscirpoides dioeca* (Kunth) García-Madrid).

According to our results, *S. holoschoenus* complex is composed by only two subspecies: subsp. *holoschoenus* and subsp. *australis*. Our molecular data suggested that despite the proximity there is a differentiation between *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* and *S. holoschoenus* subsp. *australis*. On the other hand, the study of the ecology of *S. holoschoenus* s.l. showed that *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* is present in inland areas primarily on clay and/or silty soils under thermo-, meso- or supra-Mediterranean climate while *S. holoschoenus* subsp. *australis* is found only in dune-slacks on sandy substrates with basic or acidic pH and thermo-Mediterranean or sub-Mediterranean climate, always limited to the coasts.

According to the redefinition of *Molinio-Holoschoenion* proposed in this Thesis, the alliance is limited to the Mediterranean climate and can be divided into three vegetation units: the first one including *S. nigricans* communities (Sub-group 1), the second with *J. acutus* and *J. maritimus* rushes (Sub-group 2), and the last one, comprising the core of *Molinio-Holoschoenion* (Sub-group 3). The third subgroup can be subdivided in *M. arundinacea* damp grasslands, *S. holoschoenus* rushes and a set of grasslands dominated by different species whose common characteristic is growing on *Molinio-Holoschoenion* habitat.

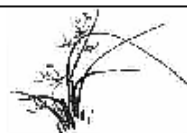
At the Iberian Peninsula level, the analysis of the conservation interest of the communities dominated by *Scirpoides* established a priority ranking, based on three criteria (regional responsibility, local rarity and habitat vulnerability), in which the subsaline rush meadows of the Canary Islands and the rush meadows and herbs growing on banks of streams with oligotrophic waters occupy the top positions. Our results revealed that the higher content on threatened species was found in the subsaline rushes while grasslands on base-rich soils host the largest number of vulnerable species. Furthermore, this study showed that *Molinio-Holoschoenion* habitat cannot be considered as a homogeneous block in terms of conservation. The community types that occupied the top positions of our priority ranking should be interpreted as needing extra protection. These communities are usually developed under constrained conditions (e.g., dunes, serpentines, subsaline soils) or in restricted territories.



At a regional scale such as the Iberian Peninsula, the Continentality index and the Mediterranean index were the main latent climatic factors that separated the vegetation dominated by *S. globifera* of that of *S. holoschoenus*, while, on the other hand, sandy soils were associated with *S. holoschoenus* subsp. *australis*. In our analysis, the diversity found among the *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* vegetation is mainly explained by the soil texture (clay), pH and some cations (sodium and magnesium). This analysis also highlights the soil water content as a significant factor in our data, so we can infer that both factors, the geochemical composition of the soil and the moisture regime, are the main determinants of *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* vegetation.

## General Conclusion

In this Doctoral Thesis, a comprehensive study of genus *Scirpoides* has been carried out, focusing on the phylogenetic aspects as well as in the ecology, vegetation and conservation interest of the European species. Within the genus *Scirpoides* five species are recognized while the *S. holoschoenus* complex is reduced to two subspecies. The habitat of the European species (*Molinio-Holoschoenion*) is composed by three subgroups according to the dominant species and the communities that this habitat comprises differ regarding to their conservation interest. Climatic and soil factors differentiate the vegetation dominated by *S. globifera* of the one dominated by *S. holoschoenus* s.l.







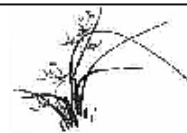
# INTRODUCCIÓN GENERAL

## GENERAL INTRODUCTION



Fotografía: Chapinería (Madrid).

Ana I. Sánchez García-Madrid



## *Cyperaceae y Scirpoides: características generales. Taxonomía*

La familia Cyperaceae, de distribución cosmopolita, comprende unos 90 géneros y más de 5.500 especies (Goetghebeur, 1998; WCSP, 2014). Tiene representantes en diferentes biomas, desde la tundra hasta la selva tropical, aunque se encuentra con mayor frecuencia en humedales (Simpson et al., 1995). Gran número de especies tienen importancia económica, etnobotánica o en horticultura (Simpson & Inglis, 2001). Cyperaceae es una familia monocotiledónea que se caracteriza por una reducción extrema en la morfología floral, con flores unisexuales o hermafroditas, poco vistosas, sentadas en las axilas de brácteas escuamiformes (glumas), que se disponen de forma helicoidal o dística formando espiguillas (Castroviejo et al., 2008).

En *Cyperaceae*, la mayoría de los géneros con menor número de especies derivan de géneros mayores, a partir de uno o varios rasgos distintivos (Muasya et al., 2009a). *Scirpoides* Ség. es uno de estos pequeños géneros, que, en su caso, deriva del amplio género *Scirpus* L., del que se diferencia por presentar tallos de sección circular, inflorescencias con glumas en disposición helicoidal y flores hermafroditas y sin perianto (Séguier, 1754; Pignotti, 2003).

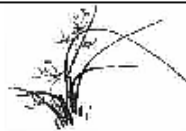
Desde un punto de vista taxonómico, el género *Scirpoides* ha estado sometido a una considerable confusión en la literatura, ya que el número de especies reconocidas y la asignación de subespecies varían en función de los autores, no existiendo un consenso general. La clasificación más reciente del género (WCSP, 2014) reconoce cuatro especies en *Scirpoides* (*S. holoschoenus* (L.) Soják, *S. burkei* (C.B. Clarke) Goetgh., Muasya & D.A. Simpson, *S. dioeca* (Kunth) Browning y *S. varia* Browning). De acuerdo con esta clasificación, *S. holoschoenus* incluye tres subespecies: *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*, *S. holoschoenus* subsp. *globifera* (L.f.) Soják y *S. holoschoenus* subsp. *thunbergii* (Schrad.) Soják. De todas las especies reconocidas en las diferentes clasificaciones, *S. holoschoenus* es el taxon que presenta mayor variabilidad infraespecífica. En concreto, la cuenca del Mediterráneo *sensu lato* (s.l.), alberga gran diversidad (Levyne, 1950; Maire, 1957; Quezel & Santa, 1962; Guinocet & Vilmoren, 1978; Pignatti, 1982; Kukkonen, 1998; Castroviejo et al., 2008).





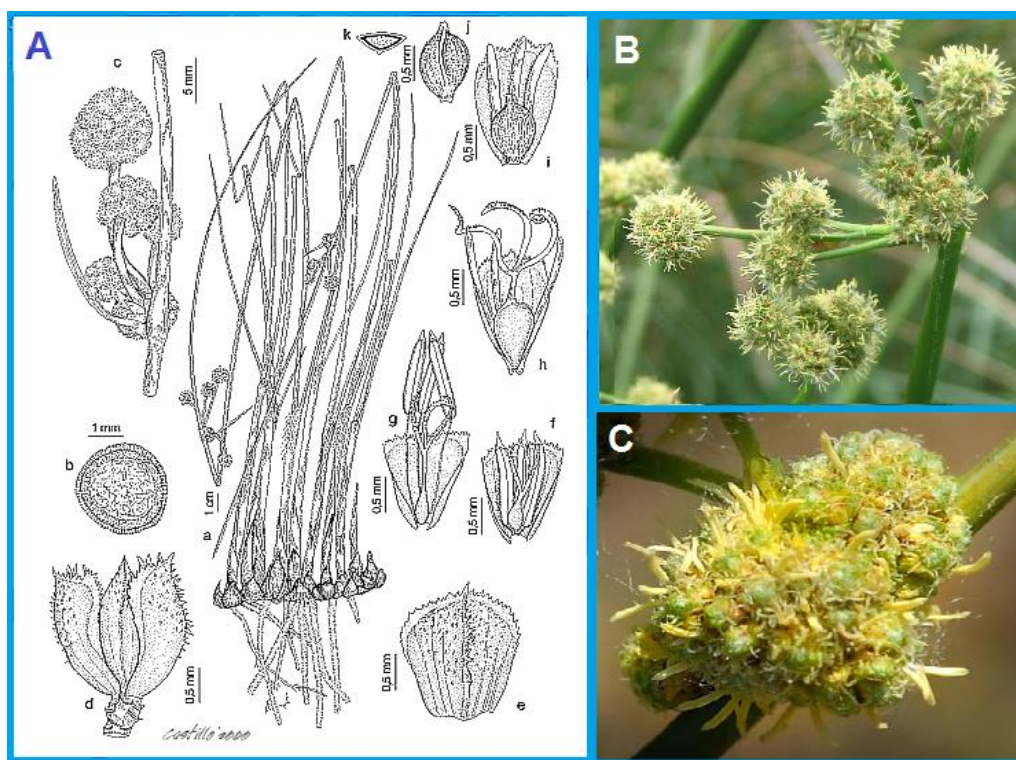
Las especies del género *Scirpoides* muestran una distribución dicotómica entre el hemisferio norte y el hemisferio sur. En el hemisferio sur, más concretamente en el sur de África y la región florística del Cabo, se localiza el centro de diversidad del género, dónde se distribuyen *S. thunbergii*, *S. dioeca*, *S. burkei* y *S. varia* (Goetghebeur, 1998; Muasya & Simpson, 2002; Muasya, 2005; Archer & Muasya, 2012). En el hemisferio norte se encuentra el complejo *S. holoschoenus* (i.e., *S. holoschoenus*, *S. globifera*), que se distribuye por toda la cuenca del Mediterráneo, desde la Península Ibérica hasta Turquía e Irán, alcanzando el sur de Inglaterra por el norte y el norte de Marruecos por el sur (Tutin et al., 1964-1980; Kukkonen, 1998).

El complejo *S. holoschoenus* ha sido estudiado morfológicamente por autores como Soják, que inicialmente (Soják, 1972a) eleva todos los taxones al nivel de especie (*S. holoschoenus*, *S. globifera* (L.f.) Soják, *S. romana* (L.) Soják y *S. thunbergii* (Schr.) Soják), aunque posteriormente (Soják, 1972b) reduce *Scirpoides* a dos especies (*S. holoschoenus*, *S. nodosus* (Rottb.) Soják) e incluye dentro del complejo *S. holoschoenus* cuatro subespecies (*S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*, *S. holoschoenus* subsp. *australis* (Murr.) Soják, *S. holoschoenus* subsp. *globifera* y *S. holoschoenus* subsp. *thunbergii*). La mayoría de las clasificaciones basadas en caracteres morfológicos dan mucho peso al número de glomérulos para la distinción de las subespecies de *S. holoschoenus*, pero también se han considerado otros aspectos como el tamaño y robustez de la planta y la longitud y rigidez de la bráctea inferior (Desfayes, 2004). Algunos autores como Desfayes (2004) también sugieren la diferenciación geográfica entre las subespecies de *S. holoschoenus* de forma que, según este autor, *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*, se encontraría en el oeste Mediterráneo mientras que la subespecie *australis*, se distribuiría fundamentalmente en el este y sur de la cuenca Mediterránea. Desfayes (2004) destaca la existencia de individuos con características intermedias entre ambas subespecies en la Península Ibérica, sur de Francia y el litoral Magrebí, así como el hecho de que Sicilia representaría la única isla en la que ambas subespecies coexisten. La presencia de gran número de individuos intermedios en las mismas poblaciones ha sido destacada además por autores como Pignotti (2003), que aunque menciona cinco morfotipos dentro de *S. holoschoenus* (*vulgaris*, *australis*, *panormitanus*, *romanus*, *parlatoris*), no les da reconocimiento formal. Según Pignotti (2003), aunque los individuos intermedios dificultan la asignación de las subespecies, algunas de estas subespecies podrían tener diferentes requerimientos ecológicos como es el caso de, por ejemplo, *S. holoschoenus* subsp. *australis*, que parece estar asociado a la presencia de sustratos

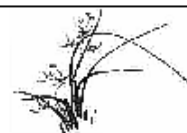


arenosos. Clasificaciones más sintéticas del género (Fiori, 1923; De Filippis, 1980; Castroviejo et al., 2008) simplifican la variabilidad encontrada en *S. holoschoenus* sinonimizando todas las posibles subespecies a dicha especie.

El concepto eco-genético de especie (Levin, 2000) señala la importancia del conocimiento de la ecología en la taxonomía. De acuerdo con este concepto, cada especie tiene un único modo de vivir y de relacionarse con el medio, así como un sistema genético único. La distinción ecológica de una nueva especie (neoespecie) se origina ante todo por selección de rasgos que mejoran la adaptación de la neoespecie al medio (físico o biótico) más allá del límite de sus progenitores. Es decir, las especies ocupan distintos nichos. En un grupo como el complejo *S. holoschoenus*, con la dificultad taxonómica mencionada anteriormente, el conocimiento de su ecología puede ayudar a comprender la delimitación de especies/subespecies.



**A:** Características generales de *Scirpoides holoschoenus* (a: hábito; b: sección transversal del tallo; c: inflorescencia; d: espiguilla sin las flores inferiores; e: gluma; f: flor inmadura; g: flor con las anteras maduras; h: flor con los estigmas salpicados de polen; i: gluma, aquenio maduro y filamentos; j: aquenio; k: sección transversal de un aquenio; Fuente: Castroviejo et al., 2008); **B:** Vista general de la inflorescencia de *S. holoschoenus*; **C:** Vista detallada de un glomérulo.



### *Molinio-Holoschoenion: definición*

Desde un punto de vista ecológico, *S. holoschoenus* es una de las especies dominantes del hábitat conocido como "Prados Húmedos de Hierbas Altas de *Molinio-Holoschoenion*" en el Manual de Interpretación de los Hábitats de la Unión Europea (EC, 2013; Código 6420).

La alianza *Molinio-Holoschoenion* consiste en juncales de *S. holoschoenus* y herbazales y pastos altos de *Molinia arundinacea* Schrank y *Schoenus nigricans* L. entre otras hierbas higrófilas. Se trata de un hábitat seminatural de origen antrópico con óptimo Mediterráneo y relacionado con el afloramiento de aguas subterráneas (Tchou, 1948). Este hábitat está distribuido a través de toda la cuenca del Mediterráneo, extendiéndose al oeste hasta las Islas Macaronésicas (Azores, Madeira y Canarias) y hacia el este hasta las costas del Mar Negro (EC, 2013). En Europa, *Molinio-Holoschoenion* se encuentra en todos los países que tienen clima Mediterráneo (Portugal, España, Francia, Italia, Croacia y Grecia) aunque muestra su mayor diversidad y extensión en la Península Ibérica (Rivas-Martínez et al., 2011).



Juncal de *Scirpoides holoschoenus* (Monreal de Ariza, Teruel)

*Molinio-Holoschoenion* no sólo está sometido a oscilaciones en la capa freática sino que depende parcialmente de las prácticas agrícolas extensivas (Rey Benayas & Scheiner, 1993; EEA, 2009). En concreto, los sistemas pastorales y la presencia de ganado contribuyen a mantener sus características en las etapas intermedias de la sucesión vegetal, formando parte de las series de vegetación de diferentes bosques



riparios (Rivas-Martínez, 1982; Moreira et al., 2005). Por otro lado, estas formaciones vegetales, que alcanzan una gran importancia en el paisaje Mediterráneo (Rivas-Martínez et al., 1980; Bernáldez, 1988), están compuestas principalmente por especies herbáceas hemicriptofíticas, con abundancia de ciperáceas, gramíneas, juncáceas y leguminosas.

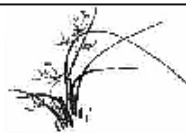
La composición florística de los humedales está condicionada principalmente por la composición geoquímica del suelo y por el régimen de aguas subterráneas y la humedad (Bernáldez & Rey Benayas, 1992; Muñoz-Reinoso, 1995; Tziella et al., 2006). En concreto, los pastizales de *S. holoschoenus* se mantienen principalmente por un régimen de humedad del suelo que experimenta cierta saturación estacional relacionada con las oscilaciones en las precipitaciones Mediterráneas. Estas condiciones impiden el desarrollo de las praderas mesofíticas por una parte y por la otra de vegetación que requiere mayor humedad.

Desde un punto de vista edáfico, *Molinio-Holoschoenion* se desarrolla sobre suelos no salinos o ligeramente salinos (Braun-Blanquet & Bolós, 1957). Aunque la alianza presenta una predilección por suelos de carácter basófilo, donde se puede encontrar mayor diversidad de comunidades vegetales (Braun-Blanquet et al., 1952), también puede distribuirse en suelos de carácter silicícola (Rivas-Martínez et al., 2011) donde pese a tener menor diversidad alcanza gran extensión.

Desde un punto de vista florístico, los prados de *Molinio-Holoschoenion* presentan similitudes con otros sintaxones tales como *Juncion maritimi*, *Caricion davallianae*, *Brachypodium phoenicoidis* o *Magnocaricion*, con los que no se encuentra bien delimitado y a veces puede solapar en la forma de comunidades de transición (Braun-Blanquet et al., 1952).

#### *Molinio-Holoschoenion: conservación*

Los pastos mediterráneos húmedos de hierbas altas de *Molinio-Holoschoenion* constituyen uno de los hábitats merecedores de interés Europeo para la conservación (Directiva Hábitat 92/43/CEE, código 6420; EC, 2013). Esto se debe, entre otros motivos, a que *Molinio-Holoschoenion* constituye un entorno en el que se desarrollan



especies vegetales raras o amenazadas así como un amplio rango de especies de mariposas, saltamontes, topillos y las aves (Kati et al., 2012).

Los juncales de *S. holoschoenus* de la Península Ibérica, en concreto, presentan el valor añadido de albergar al topillo de Cabrera, *Microtus cabrerae* Thomas (Landete-Castillejos et al., 2000), considerado como una de las especies de roedores amenazadas en Europa (IUCN, 2014).

Por otro lado, debido a las características de este hábitat, y a la necesidad de proximidad de la capa freática a la superficie, el estado de conservación de las comunidades de *Molinio-Holoschoenion* está relacionado a menudo con la disminución y/o deterioro grave de zonas húmedas naturales, directa o indirectamente inducido por la actividad antrópica (Pignotti, 2003).

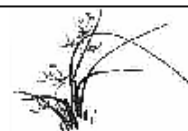


Juncal de *Scirpoides holoschoenus* (Chapinería, Madrid). Detalle de presencia animal.

### *Molinio-Holoschoenion: importancia ecológica*

Los pastos de *Molinio-Holoschoenion* proporcionan una serie de servicios ecológicos, entre los que cabe destacar su papel en la filtración y almacenamiento del agua, el control de las inundaciones, la contribución positiva al clima local y la producción de productos naturales (Caballero et al., 2009; San Miguel, 2009; Halada et al., 2011). Por otro lado, en los países Mediterráneos, este hábitat constituye reservas





de pastos a finales de verano, cuando la mayoría de los pastizales se han secado debido a la ausencia de precipitación estival característica del clima Mediterráneo (Bernáldez, 1988; Grootjans et al., 1988; Bernáldez et al., 1989; Bernáldez, 1991).



Ejemplo de utilidad para la comunidad de *Scirpoides holoschoenus*

### *Filogenia: Scirpoides y el Clado Ficinia*

En Cyperaceae, las clasificaciones más recientes basadas en caracteres morfológicos (Bruhl, 1995; Goetghebeur, 1998) han resaltado que la reducción de caracteres florales propia de la familia conduce a diferentes interpretaciones y homologías inciertas (Muasya et al., 1998). Estas dos clasificaciones (Bruhl, 1995; Goetghebeur, 1998) difieren en la agrupación supragenérica en subfamilias y tribus, de forma que Bruhl (1995) reconoce dos subfamilias y 12 tribus, mientras que Goetghebeur (1998) reconoce cuatro subfamilias y 17 tribus. Los estudios filogenéticos a nivel de familia (Muasya et al., 1998, 2009a; Simpson et al., 2007; Jung & Choi, 2013) dividen Cyperaceae en dos subfamilias: Mapanioideae y Cyperoideae. Estos estudios identifican varios grupos monofiléticos que se corresponden con tribus reconocidas con anterioridad, especialmente aquellas de Goetghebeur (1998). Varias tribus han sido reconocidas en la subfamilia Cyperoideae (e.g., Abildgaardieae, Cypereae, Dulicheae, Eleocharideae, Fuireneae, Rhynchosporae, Schoeneae, Scirpeae), pero la delimitación tribal aún no está completamente resuelta (Simpson et al., 2007).

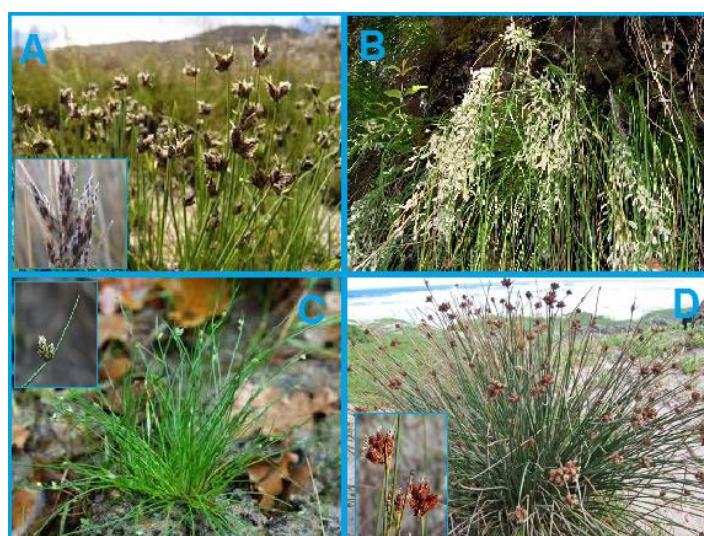
El género *Scirpoides*, junto con otros géneros segregados de *Scirpus*, fue incluido en un primer momento en la tribu Scirpeae. Estudios embriológicos y filogenéticos han confirmado la transferencia de *Scirpoides*, junto con algunos de los



géneros segregados, a la tribu Cyperaeae, constituyendo el clado *Ficinia* (Muasya et al., 1998; 2001; 2009a,b), hermano del clado *Cyperus*.

De acuerdo con los estudios previos, el clado *Ficinia* comprende cuatro géneros: *Ficinia* Schrad., *Isolepis* R.Br., *Scirpoides* Ség., and *Hellmuthia* Steud. (Muasya et al., 2009b). Recientemente se han incluido también los géneros *Dracoscirpoides* Muasya y *Erioscirpus* Palla (Muasya et al., 2012; Yano et al., 2012). El clado *Ficinia* se caracteriza por presentar morfología ficinioide (hierbas perennes amacolladas, inflorescencia pseudolateral, bráctea inferior erecta y semejante al tallo, flores bisexuales) y embrión de tipo *Cyperus* o *Ficinia* (Van der Veken, 1965; Muasya et al., 2009b). Cabe destacar que todos los géneros del clado crecen en clima Mediterráneo.

El clado *Ficinia* tiene su centro de diversidad en la región florística del Cabo (Sudáfrica), donde crecen el 70 % de las especies (Goetghebeur, 1998; Muasya et Simpson, 2002; Archer & Muasya, 2012), incluyendo los dos géneros endémicos de Sudáfrica (*Dracoscirpoides* y *Hellmuthia*). La mayoría de las especies de los géneros *Ficinia*, *Isolepis* y *Scirpoides* son también endémicas o están distribuidas en esta región. Únicamente el género *Erioscirpus*, no tiene presencia en el sur de África, aunque sus especies ocupan hábitats similares a las del hemisferio sur, ya que crece en áreas del Himalaya que presentan elementos florísticos Mediterráneos (Yano et al., 2012).



Algunos ejemplos de especies del clado Ficina. A: *Ficinia filiformis* (Lam.) Schrad.; B: *Erioscirpus comosus* (Wall.) Palla; C: *Isolepis setacea* (L.) R.Br.; D: *Hellmuthia membranacea* (Thunb.) R.W.Haines & Lye.





**OBJETIVOS Y ESTRUCTURA**

**AIMS AND STRUCTURE**



Fotografía: Carretera a Campanario, EX-349 (Badajoz).

Paloma Cantó Ramos



Esta Tesis presenta un amplio estudio sobre aspectos florísticos (comunidades vegetales), ecológicos y filogenéticos del género *Scirpoides* Ség., con especial interés por las especies distribuidas en la cuenca del Mediterráneo. Para ello se ha realizado una intensa revisión bibliográfica de los datos florísticos disponibles a nivel Europeo, así como otros estudios experimentales basados en análisis ecológicos del hábitat y en análisis filogenéticos, incluyendo otros géneros próximos a *Scirpoides*.

Los objetivos principales de esta Tesis han sido:

1. Analizar el contenido en especies endémicas y/o amenazadas y establecer una categorización del interés para la conservación de las comunidades vegetales de Prados Húmedos de Hierbas Altas de *Molinio-Holoschoenion* en la Península Ibérica.
2. Investigar el efecto de factores ambientales (edáficos y climáticos) sobre la distribución de juncas de *Scirpoides holoschoenus* en la Península Ibérica.
3. Redefinir el hábitat “Prados Húmedos de Hierbas Altas de *Molinio-Holoschoenion*” a nivel Europeo, delimitándolo de hábitats florísticamente próximos e identificando las comunidades vegetales que lo componen y cómo se relacionan entre ellas.
4. Inferir las relaciones evolutivas en el clado *Ficinia*, focalizándose principalmente en los géneros pequeños del clado (*Scirpoides*, *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus*, y *Hellmuthia*).

La presentación de esta Tesis está organizada en cuatro manuscritos, uno de ellos publicado, otro en prensa, otro sometido y el último preparado para ser sometido.

El primer trabajo (Capítulo 1) se ha centrado en el estudio del interés para la conservación de los Prados Húmedos de Hierbas Altas de *Molinio-Holoschoenion* en la Península Ibérica. Como primer paso, se realizó una recopilación de datos bibliográficos de las comunidades vegetales de *Molinio-Holoschoenion* en la Península Ibérica, tomando como base la clasificación de la alianza propuesta por Rivas-Martínez et al. (2011) para el territorio. El análisis de los datos florísticos disponibles permitió agrupar conjuntos de inventarios con características florísticas y ecológicas similares y relacionarlos con las asociaciones reconocidas por Rivas-Martínez et al.



(2011). Se hizo un recuento del contenido en especies endémicas y/o amenazadas en cada grupo (comunidad vegetal tipo) y se aplicó un método basado en tres criterios (responsabilidad regional, rareza local y vulnerabilidad del hábitat) con el fin de establecer una categorización de las comunidades vegetales tipo que reflejase la prioridad para su conservación.

Los resultados del primer capítulo revelan una escasez de datos ambientales (fundamentalmente edáficos) relacionados con la alianza *Molinio-Holoschoenion*. Debido a esto, se planteó el estudio de la relación existente entre factores ambientales (edáficos y climáticos) y la vegetación en juncuales de *Scirpoides holoschoenus* en la Península Ibérica (Capítulo 2). Para ello, se escogieron selectivamente 41 localidades dentro de la Península Ibérica y se tomaron datos florísticos, climáticos (procedentes de las estaciones climáticas más próximas) y muestras edáficas, para su análisis en el laboratorio. Se aplicaron métodos multivariantes (CCA principalmente) para confirmar la hipótesis de partida basada en que existe una relación entre la distribución de las comunidades de *S. holoschoenus* y los factores climáticos y propiedades físico-químicas del suelo. Este capítulo, además, complementa un estudio previo (Apéndices 1 y 2) realizado a nivel local en el tramo medio de la cuenca del Tajo, en el que únicamente se evalúan datos florísticos y edáficos. El Apéndice 1 corresponde al trabajo de investigación realizado para obtener el Título de Máster necesario para optar al grado de Doctor, mientras que el Apéndice 2 es la correspondiente publicación científica de dicho trabajo.

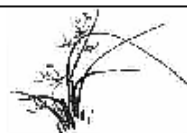
La recopilación de datos bibliográficos realizada en el primer capítulo para la Península Ibérica también mostró que el criterio de inclusión de las asociaciones en la alianza *Molinio-Holoschoenion* es muy variable en función de los autores. Dicho de otra forma, la alianza presenta una definición difusa en la que los límites y relaciones con otras alianzas no están claramente definidos. Partiendo de este punto, se planteó el Capítulo 3 como una revisión de la alianza *Molinio-Holoschoenion* a nivel Europeo y redefinición de la misma. Para ello se evaluaron todos los datos florísticos procedentes de bases de datos o bibliografía accesible, adscritos por sus autores a *Molinio-Holoschoenion*, en base a cuatro criterios. Esto permitió delimitar los requerimientos de la alianza en cuanto a humedad, salinidad y clima, que siempre será Mediterráneo. Por otro lado, en el Capítulo 3 también se estudiaron los grandes grupos de vegetación que componen la alianza y las relaciones entre ellos, definiendo tres



subalanzas en *Molinio-Holoschoenion* relacionadas con las especies dominantes y factores ecológicos subyacentes.

El Capítulo 4 se basa en el análisis de las relaciones evolutivas en el clado *Ficinia*. La necesidad de elaborar una filogenia molecular del género *Scirpoides* surge a raíz de la confusión taxonómica encontrada en la recopilación de datos bibliográficos tanto a nivel de la Península Ibérica como a nivel Europeo. El estudio morfológico de todos los individuos de *Scirpoides holoschoenus* s.l. recolectados en el campo, junto con la revisión bibliográfica de todas las clasificaciones del género a nivel Europeo, permitió establecer una idea básica sobre la diversidad de este taxon y formular hipótesis sobre sus subespecies. Sin embargo, la presencia en las poblaciones de individuos que no eran claramente adscribibles a ninguna subespecie orientó hacia el planteamiento del estudio filogenético. Para este estudio se consideró todo el ámbito de distribución de *Scirpoides* (cuenca del Mediterráneo y sur de África) y se incluyeron otros géneros próximos (*Ficinia*, *Isolepis*, *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus*, y *Hellmuthia*) que, junto con *Scirpoides*, constituyen el clado *Ficinia*. Los resultados de este capítulo confirman nuestra hipótesis de partida de la existencia de dos especies de *Scirpoides* a nivel Europeo (*Scirpoides holoschoenus* y *Scirpoides globifera*) y dos subespecies en *S. holoschoenus* (subsp. *holoschoenus* y subsp. *australis*). Este capítulo desarrolla un estudio piloto previo (Apéndice 3) basado en la búsqueda de marcadores moleculares de utilidad filogenética en el género *Scirpoides*.

Durante el periodo de realización de la Tesis Doctoral se ha tenido la oportunidad de participar en otro trabajo adicional (no incluido) consistente en la realización de un Atlas Digital de plantas medicinales de la Comunidad de Madrid, publicado a través del Campus Virtual de la UCM. Esto ha permitido, además, adquirir conocimientos florísticos de gran utilidad en el trabajo de campo, especialmente en el capítulo 2.







# CAPÍTULO 1

## CHAPTER 1





Fotografía: Barbate (Cádiz).  
Ana I. Sánchez García-Madrid



# Classification of habitats highlights priorities for conservation policies: The case of Spanish Mediterranean tall humid herb grasslands



Ana S. García-Madrid, José A. Molina\*, Paloma Cantó

Plant Sciences Department, Complutense University, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid, Spain

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 11 December 2012

Received in revised form 17 June 2013

Accepted 13 October 2013

### Keywords:

Databases

EC Habitats Directive

*Molinio-Holoschoenion*

Numerical classification

Plant-community types

Wetlands

## ABSTRACT

The Mediterranean grasslands of *Molinio-Holoschoenion* are one of the lesser known natural habitat types of interest for conservation in the European Community. A study on their content with regard to their plant-communities and interest for plant conservation is conducted on a regional scale for the first time. A new comprehensive classification is proposed for this habitat type in Spain (Iberian Peninsula and Balearic and Canary Islands) where they have their highest European diversity. Twenty-five plant-community types are floristically identified by k-means clustering. Cluster analysis reveals a major hierarchical aggregation in two vegetation groups: (i) rush meadows of *Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják; and (ii) communities of herbs and forbs dominated by *Molinia caerulea* (L.) Moench subsp. *arundinacea* (Schrank) H. Paul and/or *Schoenus nigricans* L. These groups are associated with different positions along a soil moisture gradient where rush formations occupy the positions farthest from the water table. Cluster Analysis also shows an uneven distribution of species with conservation interest. The highest content in endangered species is found in halophilous rushes. Grasslands on mineralised soils host the highest number of vulnerable species. Spanish *Molinio-Holoschoenion* plant communities were ranked using three criteria (regional responsibility, local rarity and habitat vulnerability) in order to set conservation priorities. The highest conservation values were achieved by coastal rush communities developing on dune slacks, and by forbs and rushes in the Baetic System growing on banks of streams with oligotrophic waters.

© 2013 Elsevier GmbH. All rights reserved.

## Introduction

Tall herb grasslands growing on humid soils and shaped by human influence are known in Mediterranean-climate areas around the world (e.g. Hauenstein et al. 2002; Keeler-Wolf et al. 2007). Mediterranean tall humid herb grasslands of the *Molinio-Holoschoenion* represent one of the natural habitat types of European Community interest for conservation (EC 2007, habitat code 6420). They consist of rushes of *Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják, and tall grasses and herbs related to outcropping of ground-water and anthropogenic influence (Tchou 1948). Grasslands of *Molinio-Holoschoenion* are subjected to water table oscillations (Molina et al. 2004), and are also partly dependent on extensive agricultural practices (EEA 2009); specifically they are mainly affected by pastoral systems, which contribute to maintaining their characteristics in the intermediate stages of vegetation succession (Moreira et al. 2005). *Molinio-Holoschoenion* vegetation performs certain ecological services (Caballero et al. 2009; Halada et al. 2011; San Miguel 2009). For example, since it grows on moist soils, it

avoids the water stress typical of the Mediterranean climate caused by the absence of precipitation in the hot season (Bernáldez 1988; Bernáldez et al. 1989; Grootjans et al. 1988), and constitutes pasture reserves in late summer when most of the grasslands in Mediterranean countries have dried (Bernáldez 1991).

Herb grasslands of *Molinio-Holoschoenion* play a role in various key ecological functions of wetlands such as water filtration and storage, flood prevention, positive contribution to local climate, production of natural products and habitats for rare or endangered species. They provide an important habitat for a wide range of species of butterflies, grasshoppers, voles and birds (Kati et al. 2012). *Molinio-Holoschoenion* grasslands are present throughout Mediterranean countries but they reach their greatest extension and diversity on the Iberian Peninsula (Rivas-Martínez et al. 2011), where very little is still known about the richness and distribution of endemisms and the endangered species that live in this habitat. Iberian *Molinio-Holoschoenion* has the added value of hosting the endemic Cabrera vole, *Microtus cabreræ* Thomas (Landete-Castillejos et al. 2000), classified by the IUCN (2012) as one of the threatened species of rodents in Europe.

Territorial plant diversity classification is a useful aid for biodiversity conservation (Türe & Böcük 2010). In spite of the fact that Iberian *Molinio-Holoschoenion* grasslands include a high

\* Corresponding author. Tel.: +34 913941770; fax: +34 913941774.  
E-mail address: [jmabril@farm.ucm.es](mailto:jmabril@farm.ucm.es) (J.A. Molina).







## CAPÍTULO 2

## CHAPTER 2





Fotografía: Mingorria (Ávila).  
Ana I. Sánchez García-Madrid

# Environmental factors influencing plant diversity in the Mediterranean tall humid herb grasslands of *Scirpoides holoschoenus* (L.) Sójak

Ana S. García-Madrid <sup>1</sup>, José A. Molina <sup>1,4</sup>, Carla Pinto-Cruz <sup>2</sup>, Miguel A. Casermeiro<sup>3</sup> & Paloma Cantó <sup>1</sup>

1.- Plant Sciences Department, Complutense University of Madrid. Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid, Spain.

2.- ICAAM, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora. Apartado 94 7002-554 Évora, Portugal.

3.- Soil Sciences Department, Complutense University of Madrid. Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid, Spain.

4.- Author for correspondence; e-mail: jmabril@ucm.es

## Abstract

In the western Mediterranean, tall humid herb grasslands of *Scirpoides* are subdivided in three major types, each one dominated by a different taxon: *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* grassland vegetation, *S. holoschoenus* subsp. *australis* grassland vegetation, and *S. globifera* grassland vegetation. At a biogeographical scale, climatic factors are the major latent drivers that distinguish *S. globifera* grasslands from those of *S. holoschoenus* s.l. At a regional scale such as the Iberian Peninsula, soil texture is the major environmental factor associating *S. holoschoenus* subsp. *australis* grasslands to sandy soils of dune-slacks. Then, other soil factors such as their content in soluble ions are the most important latent environmental drivers in explaining plant community diversity within *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* grasslands.

**Key words:** Canonical Correspondence Analysis, Iberian Peninsula, *Molinio-Holoschoenion*, *Scirpoides holoschoenus*.

**Running title:** Environmental factors influencing plant diversity in *Scirpoides holoschoenus* grasslands.

## Introduction

Mediterranean tall humid herb grasslands of *Molinio-Holoschoenion* consist of a pleiad of plant-communities largely characterized by tall grasses such as *Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják, *Molinia arundinacea* Schrank, and *Schoenus nigricans* L., among other hygrophilous herbs (Braun-Blanquet et al., 1952). *Molinio-Holoschoenion* vegetation grows on non-saline –or slightly saline– soils with accessible groundwater by roots (Braun-Blanquet & Bolós, 1957; Rivas-Martínez et al., 2011). This vegetation type defines a semi-natural habitat type with European conservation interest (EC, 2013, habitat code 6420). Grasslands of *Molinio-Holoschoenion* perform certain ecological services such as water filtration and storage, flood prevention, and positive contribution to local climate (Caballero et al., 2009; San Miguel, 2009; Halada et al., 2011). In Mediterranean countries, they have the additional value of constituting pasture reserves in late summer when most of the mesic grasslands have dried due to the absence of precipitation in the hot season (Bernáldez, 1988; Grootjans et al., 1988; Bernáldez et al., 1989; Bernáldez, 1991).

*Molinio-Holoschoenion* grasslands are considered to be widespread throughout the entire Mediterranean basin extending eastwards to the coasts of the Black Sea and westwards to the Macaronesian Islands (EC, 2013). In Europe, they show its highest diversity and greatest extension in the Iberian Peninsula where the rush-grasslands of *S. holoschoenus* form the core of this vegetation (García-Madrid et al., 2014). *Scirpoides holoschoenus* subspecific taxa (i.e., *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*, *S. holoschoenus* subsp. *australis*) have been considered as faithful taxa of different plant-communities (Rivas-Martínez et al., 2011). It is noteworthy that in the western Mediterranean, there is a co-occurrence of two *Scirpoides* species (*S. holoschoenus* and *S. globifera*) in *Molinio-Holoschoenion* habitats of North Africa (García-Madrid et al., in press).

A Mediterranean-type climate and a humid soil are the filtering environmental conditions for the existence of *Molinio-Holoschoenion* grasslands. Specifically, *Scirpoides holoschoenus* grasslands should be primarily maintained by a soil moisture regime experiencing some seasonal water saturation related to Mediterranean rainfall oscillations. These conditions should prevent the development of mesic grasslands on the one hand and wetland vegetation on the other. Ultimately, this habitat is modulated by anthropogenic processes (Tchou, 1948; Rey Benayas & Scheiner, 1993), since grazing contributes to maintaining its characteristics in the intermediate stages of vegetation succession (Moreira et al., 2005).

Chemical soil properties such as soil cations composition and soil nitrogen explain plant diversity in *Scirpoides holoschoenus* grasslands at a local scale (García-Madrid et al., 2010). But the role of these and other environmental factors such as physical soil properties or climatic factors have not been studied at a regional scale. Our work proposes a study of this type taking

the Iberian Peninsula as a regional scale. The specific objectives are: (a) to identify floristic groups in Iberian *Scirpoides holoschoenus* grasslands, and (b) to relate the resulting floristic groups with environmental factors. The results will provide a useful tool for European conservation and restoration policies.

## Methods

### *Data collection*

41 sites were sampled within which 39 were localized in the Iberian Peninsula, one in north Morocco and one in the Canary Islands (Table 1). Southernmost localities helped to prospect the limits of *Scirpoides holoschoenus* grasslands southwards. Localities were chosen following a stratified method (Kent & Coker, 1992) taking into account the representativity of the bioclimatic, geologic and habitat categories and the biogeographic sectors (Rivas-Martínez et al., 2011) in order to obtain a reasonable balance. The sampling was conducted from May to September of 2012 coinciding to the growing season of *Scirpoides holoschoenus* grasslands. The vegetation was relevé estimating each taxon's percent cover by adapting Braun-Blanquet's (1964) method to allow conventional multivariate procedures (Podani, 2006). Plot size was of 30 m<sup>2</sup>. Plant nomenclature follows Flora Ibérica (Castroviejo, 86-2012).

Two soil samples were collected in each plot following ISRIC protocols (Reeuwijk, 2002). One sample corresponded to the first superficial 10 cm and the other to a cylinder of known volume in order to estimate moisture parameters gravimetrically. Both samples were taken from the central portion of the plot. Ionic composition of soluble salts (cations: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, and anions: Cl<sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> y SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) was analysed in the laboratory after an extraction in distilled water (soil water 1:5). The analyses were carried out at room temperature using a chromatograph Metrohm model 761 Compact IC (Metrohm, Herisau, Switzerland). Electrical Conductivity (EC), pH, and moisture analyses (bulk density, WSC and moisture percentage) were performed following the ISRIC methodology (Reeuwijk, 2002). Soil texture was analysed using Bouyoucos densimetry method (Bouyoucos, 1951).

Climatic data for each site were taken from the most representative weather station based on distance, altitude and natural potential vegetation. Different bioclimatic indices were calculated from climatic data (Table 2, Tormo Molina et al., 1992; Rivas-Martínez & Rivas-Saenz, 2009). These calculations included the following parameters: Mean Annual Temperature (T), Mean Annual Rainfall (P), Positive Precipitation of the driest three months (Ppd), Positive Temperature of the driest three months (Tpd), Thermicity Index (It), simple Continentality Index (Ic), Mediterraneity Index of June, July and August (Im3), Annual Ombrothermic Index (Io), Annual Ombro-Evaporation Index (Ioe), and Potential Evapotranspiration (PE).

### Statistical procedures

Hierarchical cluster analysis of the floristic data was used to organize information into discrete floristic-groups and display how the plant diversity is distributed, as well as revealing the floristic and ecological relationships (McGarigal et al., 2000). The cluster analysis used chord distance to compute the distance between each pair of samples, and the unweighted pair group method (UPGMA) for distance-optimizing clustering. The classification analysis was performed with Syntax 2000 (Podani, 2001). A further analysis was performed specifically for *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* grasslands, as they are presented the greatest distribution and variability in the data. In this case, Euclidean distance and Ward's method were chosen as algorithms.

Diagnostic species of the vegetation units were estimated through the calculation of fidelity, measured using the *phi* ( $\Phi$ ) coefficient, of the species to a group of relevés dominated by a particular *Scirpoides* taxa (*S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*, *S. holoschoenus* subsp. *australis* and *S. globifera*). The sites dominated by *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* were sub-divided into two groups: one including the base-rich sites and the other with the base-poor ones. This division was done because in this study we wanted to find ecological companions of each taxa and not properly characteristic species of the plant communities identified by cluster analysis. The analysis was performed with GINKGO program (B-VegAna, De Cáceres 2003, <http://biodiver.bio.ub.es/veganaweb>). Only species with  $\Phi > 0.25$  and probability of the observed pattern of species occurrence under random expectation lower than 0.001 (Fisher's exact test) were considered diagnostic of the association. Species with  $\Phi > 0.5$  were termed highly diagnostic.

In order to identify correlations between environmental and floristic variables direct gradient analyses were performed. Detrended correspondence analysis (DCA) was carried out to determine the gradient lengths before deciding on the most appropriate method for analysis (ter Braak and Smilauer, 2002). Canonical correspondence analyses (CCA) were performed using the Monte Carlo test to identify those ecological variables that provided significant information. An initial CCA was performed using floristic and climatic data as variables. A further CCA was done using the species and soil parameters as variables excluding outside Iberia localities. Another subsequent CCA analysis was performed specifically for *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* sites, as in the case of the cluster analysis, because these rush meadows presented the greatest distribution and variability in the data.

## Results

### *Cluster analyses*

The dendrogram generated with the classification of the sites with the floristic data as variables showed three large groups corresponding to each of the following dominant species: *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* samples (Group A) in 34 plots, *S. holoschoenus* subsp. *australis* samples (Group B) in five plots and *S. globifera* samples (Group C) in 2 plots (Fig. 1). The linkage levels between these groups showed that the plots dominated by *S. holoschoenus* subsp. *australis* and *S. globifera* were the most analogous, and, after this, plots dominated by *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* were the next to be included. An underlying latitudinal gradient was identified from *Scirpoides holoschoenus* samples to *Scirpoides globifera* samples from North to South. A further analysis performed on the *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* samples revealed four main subgroups (Fig. 2). The first group (Aa) encompassed 14 samples floristically characterized by *Holcus lanatus*, *Melica ciliata* subsp. *magnolii*, and *Agrostis stolonifera*. Subgroup Ab included three base-rich samples characterized by the presence of nitrophilous grassland species such as *Cynodon dactylon*, *Potentilla reptans* and *Dittrichia viscosa*. Subgroup Ac was composed by 12 samples with a high presence of *Elymus repens*, *Brachypodium phoenicoides* and *Cirsium monspessulanum* subsp. *ferox*. Subgroup Ad encompassed five samples characterized by the presence of *Juncus acutus*, *Schoenus nigricans*, and *Mentha suaveolens*.

### *Diagnostic species*

The analysis of diagnostic species showed that each of the *Scirpoides* species have at least two species that frequently accompany them and characterize their presence (Table 3). *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* Community on base-rich soils (Subgroups Ab, Ac, Ad) was frequently accompanied by seven species among which stands out *B. phoenicoides* ( $\Phi = 0.46$ ) and *C. monspessulanum* subsp. *ferox* ( $\Phi = 0.39$ ). In the case of the sites dominated by *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* on base-poor soils (Subgroup Aa), 11 species were identified as companions, one of them highly diagnostic, (*Agrostis pourretii*,  $\Phi = 0.51$ ). Other characteristic species of this group were *H. lanatus* ( $\Phi = 0.44$ ), *M. ciliata* subsp. *magnolii* ( $\Phi = 0.42$ ) and *Agrostis castellana* ( $\Phi = 0.42$ ). The samples dominated by *S. holoschoenus* subsp. *australis* (Group B) counted with two characteristic species: *Hypochaeris radicata* ( $\Phi = 0.38$ ) and *Logfia arvensis* ( $\Phi = 0.38$ ). Finally, *S. globifera* Community (Group C) was frequently accompanied by four species: *D. viscosa* ( $\Phi = 0.43$ ), *Arundo donax* ( $\Phi = 0.37$ ), *Mentha pulegium* ( $\Phi = 0.31$ ), and *J. acutus* ( $\Phi = 0.26$ ).



### Direct gradient analysis

In the CCA obtained using floristic data and climatic features as variables, both *Scirpoides globifera* sites and *S. holoschoenus* subsp. *australis* sites, were located at the right-hand side of the diagram (Fig. 3). The Monte Carlo test indicated that the Continentality Index (Ic,  $P=0.002$ ) and the Mediterranean Index (Im3,  $P=0.004$ ) explained a statistically significant proportion of the variation of the floristic data. The positioning of the environmental variables showed that the first synthetic gradient was strongly negatively correlated with Ic ( $c. -0.8297$ ). The second axis was strongly positively correlated with Ppd ( $c. 0.7196$ ) and negatively correlated with Im3 ( $c. -0.7140$ ).

Figure 4 shows the representation of the first two axes of the CCA obtained using floristic and soil parameters and excluding *Scirpoides globifera* sites. In this figure, the sites with *S. holoschoenus* subsp. *australis* were located at the right-hand side of the diagram related with soils with higher content of sand. The *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* plots with *Schoenus nigricans* were located in the left-up hand side related with the moister soils. The positioning of the soil variables showed that the first synthetic axis was correlated with sandy textures ( $c. 0.6525$ ) which reaches statistically significant values ( $P= 0.002$ ) by means of Monte Carlo Test and the axis 2 with moisture content of the soil ( $c. 0.6114$ ).

Figure 5 shows the representation of the first two axes of the CCA obtained using floristic and soil parameters and performed specifically for *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* sites. The Monte Carlo test indicated that the Clay ( $P=0.002$ ), pH ( $P=0.01$ ), Sodium ( $P=0.04$ ) and Magnesium ( $P=0.004$ ) explained a statistically significant proportion of the variation in the floristic data. The first synthetic gradient was negatively correlated with Clay ( $c. -0.5681$ ) and pH ( $c. -0.4570$ ), positioning *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* plots with higher than the average at the left-hand side of the diagram.

## Discussion

Tall herb grasslands growing on humid soils and shaped by human influence are known in Mediterranean-climate areas around the world (e.g. Hauenstein et al., 2002; Keeler-Wolf et al., 2007). *Scirpoides* grasslands are an important part of wetlands in the western Mediterranean Basin (Rivas-Martínez et al., 2011; García-Madrid et al., 2014). Our results revealed that climatic factors related to more pronounced summer droughts (expressed as high Mediterraneanity) and a mild climate (expressed as a low Continentality) periods have had to play an important role in *Scirpoides* species grassland diversifications and can explain distribution patterns at a biogeographical scale such as the western Mediterranean. The southernmost

Mediterranean distribution of *Scirpoides globifera* was already known (Maire, 1957; Kukkonen, 1998) and its absence northwards to the Strait of Gibraltar points out the importance of this geographical barrier for plants including different hygrophytes (Lumbreras et al., 2012).

Geographical patterns have been related to *S. holoschoenus* subspecies distribution (Desfayes, 2004) refereeing *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* as a western Mediterranean taxon, and *S. holoschoenus* subsp. *australis* as an eastern and southern Mediterranean taxon. Besides, this latter taxon has been associated to sandy soils (Pignotti, 2003). Our results highlight the relationships of *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis* grasslands and coarser soil textures at a regional scale such the Iberian Peninsula. We found *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis* samples on dune-slacks in coastal environments constituting one of the *Molinio-Holoschoenion* community types with the maximum conservation value (García-Madrid et al., 2014). These samples have been found not only in the Mediterranean coasts but also in the Atlantic coasts, adopting in the Cantabrian-Atlantic area under a current Temperate climate, a kind of “Mediterranean relictual situation” on dryer environments as the sand dunes which in its turn could be more connected to the alliance *Caricion davallianae* than to *Molinio-Holoschoenion*. We also found that soil moisture is a major factor in explaining floristic variability within *Scirpoides holoschoenus* grasslands. Specifically, those with *Schoenus nigricans* point out soils with moister conditions (Molina et al., 2003; Molina et al., 2004).

At a regional level, floristic composition in *S. holoschoenus* rush meadows, is largely explained by soil-soluble ion content as it happens at a local scale (García-Madrid et al., 2010). Base-rich soils are related to a higher diversity in *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* plant-community types as the Mediterranean region has evolutionary centers on high pH soils (Pärtel, 2002).

## Acknowledgements

We thank the Complutense University of Madrid for a grant to Ana S. García-Madrid. We would also like to thank Mr. Álvaro Nicolás Díez for his help during the field work and Dr. José Ramón Quintana Nieto for his help in the laboratory. Ana Lumbreras Corujo was a helpful colleague during the elaboration of this manuscript.

## References

- Bernáldez, F.G. 1988. Water and landscape in Madrid: Possibilities and limitations. *Landscape and Urban Planning* 16: 69–79.

- Bernáldez, F.G. 1991. Ecological consequences of the abandonment of traditional land use systems in central Spain. *Options Méditerranéennes, Série Séminaires* 15: 23–29.
- Bernáldez, F.G., Rey Benayas, J.M., Levassor, C., & Peco, B. 1989. Landscape ecology of uncultivated lowlands in central Spain. *Landscape Ecology* 3: 3–18.
- Bouyoucos, G.H. 1951. A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soils. *Agronomy Journal* 43: 434–438.
- Braun-Blanquet, J., & Bolòs, O. de. 1957. Les groupements végétaux du bassin moyen Del l'Ebre et leur dynamisme. *Anales de la Estación Experimental de Aula Dei* 5: 1–266.
- Braun-Blanquet, J., Roussine, N., & Negre R. 1952. *Les Groupements Végétaux de la France Méditerranéenne. Prodrome des Groupements Végétaux de la France*. 297 pp. Centre National de la Recherche Scientifique, CNRS, Paris.
- Braun-Blanquet, J. 1964. Pflanzensoziologie. Grundzüge der Vegetationskunde. Ed. 3. Springer. Verlag. Wien. Pp. 865.
- Caballero, P., Fernández-González, F., Badia, R.P., Molle, G., Roggero, P.P., Bagella, S., et al. 2009. Grazing systems and biodiversity in Mediterranean areas: Spain, Italy and Greece. *Pastos* 39: 9–53.
- Castroviejo, S. (Coord.). 1986–2012. Flora Ibérica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Vol. I–VIII, X–XV, XVII–XVIII, XXI. Madrid: Real Jardín Botánico, C.S.I.C.
- De Cáceres, M., Oliva, M., & Font, X. 2003. GINKGO, un programa de análisis multivariante orientado a la clasificación basada en distancias. In XXVII Congreso Nacional de Estadística e Investigación Operativa Lleida, 8–11 de abril de 2003.
- Desfayes, M. 2004. The specific status of *Cyperus badius* and the subspecies of *Scirpoides holoschoenus* (Cyperaceae), with special reference to Sardinia. *Flora Mediterranea* 14: 173–188.
- EC (European Commission). 2013. *Interpretation manual of European Union Habitats – EUR 28*. European Commission. DG Environment, Brussels, BE.
- García-Madrid, A.S., Molina, J.A., Casermeiro, M.A., De la Cruz, M.T. & Cantó, P. 2010. Relaciones entre los parámetros físico-químicos del suelo y la vegetación en juncuales de *Scirpoides holoschoenus*. *Lazaroa* 31: 99–107.
- García-Madrid, A.S., Molina, J.A. & Cantó, P. 2014. Classification of habitats highlights priorities for conservation policies: the case of Spanish Mediterranean tall humid herb grasslands. *Journal for Nature Conservation* 22: 142–156.
- García-Madrid, A.S., Muasya, A.M., Álvarez, I., Cantó, P. & Molina, J.A. 2014. Towards resolving phylogenetic relationships in the *Ficinia* clade and description of the new genus *Afroscirpoides* (Cypereae, Cyperaceae). *Taxon*, in press.
- Grootjans, A.P., Diggelen, M., Wassen, J., & Wiersinga, W.A. 1988. The effects of drainage on groundwater quality and plant species distribution in stream valley meadows. *Plant Ecology* 72: 37–48.
- Halada, L., Evans, D., Romão, C., & Petersen, J.E. 2011. Which habitats of European importance depend on agricultural practices?. *Biodiversity and Conservation* 20: 2365–2378.
- Hauenstein, E., González, M., Peña-Cortés, F., & Muñoz-Pedreros, A. 2002. Clasificación y caracterización de la flora y vegetación de los humedales de la costa de Tolten (IX Región, Chile). *Gayana Botánica* 59: 91–104.
- Keeler-Wolf, T., Evens, J.M., Solomeshch, A.I., Holland, V.L., & Barbour, M.G. 2007. Community classification and nomenclature. In M.R. Stromberg, J.D. Corbin, & C.M. D'Antonio (Eds.), *California grasslands: Ecology and management* (pp. 21–34). Berkeley, CA: University of California Press.
- Kent, M., & Coker, P., 1992. *Vegetation description and analysis. A practical approach*. Belhaven, Londres, pp. 363.
- Kukkonen, I. 1998. Cyperaceae. In : K.H. Rechinger. *Flora des Iranischen Hochlandes und der Umrahmenden Gebirge: Persien, Afghanistan, Teile Von West-Pakistan, Nord-Iraq, Azerbaidjan, Turkmenistan*.

- Lumbreras, A., Tahiri H., Pinto-Cruz C., Pardo C. & Molina J.A. 2012. Habitat variation in vernal pool ecosystems on both sides of the Strait of Gibraltar. *Journal of Coastal Research* 28(5): 1032–1039.
- Maire, R. 1957. *Flore de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara)*. Volume IV: *Monocotyledonae: Glumiflorae: Cyperaceae, Principes, Spathiflorae, Commelinales*. Pp. 51–54. Paris: Paul Lechevalier.
- McGarigal, K., Cushman, S., & Stafford, S. 2000. *Multivariate statistics for wildlife and ecology research*. New York: Springer-Verlag.
- Molina, J.A., Casermeiro, M.A. & Moreno, P.S. 2003. Vegetation composition and soil salinity in a Spanish Mediterranean coastal ecosystem. *Phytocoenologia* 33/2: 475–494.
- Molina J. A., C. Pertíñez A. Díez & Casermeiro M.A. 2004. Vegetation composition and zonation of a Mediterranean braided river floodplain. *Belg. J. Bot.* 137(2): 140–154.
- Moreira, F., Pinto, M.J., Henriques, I., & Marques, T. 2005. Importance of low-intensity farming systems for fauna, flora and habitats protected under the European “Birds” and “Habitats” directives: Is agriculture essential for preserving biodiversity in the Mediterranean region? In A.R. Burk (Ed.), *Trends in biodiversity research* (pp. 117–145). New York: Nova Science Publishers.
- Pärtel, M. 2002. Local plant diversity patterns and evolutionary history at the regional scale. *Ecology* 83: 2361–2366.
- Pignotti, L. 2003. *Scirpus* L. and related genera (*Cyperaceae*) in Italy. *Webbia* 58/2: 281–400.
- Podani, J. 2001. *SYN-TAX 2000. Computer Programs for Data Analysis in Ecology and Systematics*. User's Manual. Budapest, Hungary: Scientia.
- Podani, J. 2006. Braun-Blanquet's legacy and data analysis in vegetation science. *Journal of Vegetation Science* 17: 113–117.
- Reeuwijk, L.P. van (Ed.). 2002. *Procedures for soil analysis*. ISRIC, FAO.
- Rey Benayas, J.M., & Scheiner, S.M. 1993. Diversity patterns of wet meadows along geochemical gradients in central Spain. *Journal of Vegetation Science* 4: 103–108.
- Rivas-Martínez, S., & Rivas-Sáenz, S. 2009. Worldwide Bioclimatic Classification System, Inc. <http://www.globalbioclimatics.org> (accessed on January 11, 2015).
- Rivas-Martínez, S., et al. 2011. Mapa de series, geoseries y geopermaseries de vegetación de España. *Itinera Geobotanica* 18: 296–298.
- San Miguel, A. (Coord.). 2009. Los pastos de la Comunidad de Madrid. Tipología, Cartografía y Evaluación. *Serie Técnica de Medio Ambiente nº4*. Comunidad de Madrid, Madrid.
- Tchou, Y.-T. 1948. Études écologiques et phytosociologiques sur les forêts riveraines du Bas-Languedoc (*Populetum albae*). *Vegetatio* 1: 2–28.
- ter Braak, C.J.F., & Smilauer, P. 2002. *CANOCO Reference Manual and User's Guide to Canoco for Windows: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5)*. Ithaca, New York: Microcomputer Power.
- Tormo Molina, R., Ruiz Téllez, T., & Devesa Alcaraz, J.A. 1992. Aportación a la bioclimatología de Portugal. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 49/2: 245–264.

**Table 1:** Study sites, UTM coordinates and altitude. SP= Spain, MO= Morocco, CA= Canary Islands.

Study sites	Locality	UTM	Alt (m)
1	SP: Zaragoza, Calatayud	30T 0612512 4576327	533
2	SP: Teruel, Monreal de Ariza	30T 0573908 4573596	734
3	SP: Ávila, Navas del Rey	30T 0395115 4471025	683
4	SP: Ávila, Mingorria	30T 0357872 4514709	909
5	SP: Ávila, Sotillo de la Adrada	30T 0366673 4459695	648
6	SP: Málaga, El Sabinal, Los llanos (MA-441)	30S 0344920 4077897	250
7	SP: Málaga, Álora, Carratraca Mountains	30S 0335472 4084986	335
8	SP: Málaga, road to San Pedro de Alcántara A-397, km 26	30S 0314716 4053154	1006
9	SP: Málaga, between Ronda and Campillos	30S 0312406 4075191	763
10	SP: Granada, Los Bermejales reservoir	30S 0421239 4094703	842
11	SP: Granada, Otura	30S 0442706 4099343	811
12	SP: Sevilla, Cantillana	30S 0251225 4167137	47
13	SP: Sevilla, Guillena	29S 0760704 4159562	13
14	SP: Jaén, Linares	30S 0437975 4216528	305
15	SP: Cádiz, Barbate	29S 0766984 4008467	2
16	SP: Castellón, Mijares reservoir	30T 0734386 4433448	166
17	SP: Castellón, Fanzara	30T 0728791 4432626	225
18	SP: Cuenca, Motilla del Palancar	30S 0586813 4380370	793
19	SP: Valladolid, Pollos	30T 0321833 4590059	675
20	SP: Valladolid, Tordesillas	30T 0333334 4594361	669
21	SP: Huelva, Almonte, Doñana	29S 0721558 4120405	61
22	SP: Huelva, Parque Natural de Doñana	29S 0699744 4115190	7
23	SP: Badajoz, between Valdivia and Orellana reservoir	30S 0270114 4323444	329
24	SP: Badajoz, road to Campanario, EX-349	30S 0277943 4307181	306
25	SP: Huelva, Zaranda, Minas de Río Tinto	29S 0713481 4173110	328
26	SP: Huelva, Zaranda, Minas de Río Tinto	29S 0713560 4173563	389
27	SP: Cáceres, Jaraicejo	30S 0270885 4417239	272
28	SP: Cáceres, Trujillo	30S 0249005 4391577	429
29	SP: Galicia, Santa Marta de Ortigueira	29T 0592280 4839706	2
30	SP: Galicia, between Celeiro and Viveiro	29T 0612966 4836401	2
31	SP: Guadalajara, Turmiel	30T 0575097 4538220	1151
32	SP: Guadalajara, Balconete de Tajuña	30T 0511064 4500792	930
33	SP: León, Villaquejida	30T 0281847 4670406	764
34	SP: Madrid, Estremera	30T 0490509 4448642	647
35	SP: Madrid, Chapinería	30T 0398879 4471156	633
36	MO: Martil	30S 0291743 3942074	4
37	SP: Alicante, Altea	30S 0757619 4277215	3
38	CA: Tenerife, Igüste de San Andrés, Hoya de los Juncos	28R 0386762 3157473	141
39	SP: Teruel, Nogueruelas	30T 0700995 4455895	1088
40	SP: Valencia, between Millares and Cortes de Pallás	30S 0685073 4349264	234
41	SP: Valencia, Catadau	30S 0704574 4352073	175

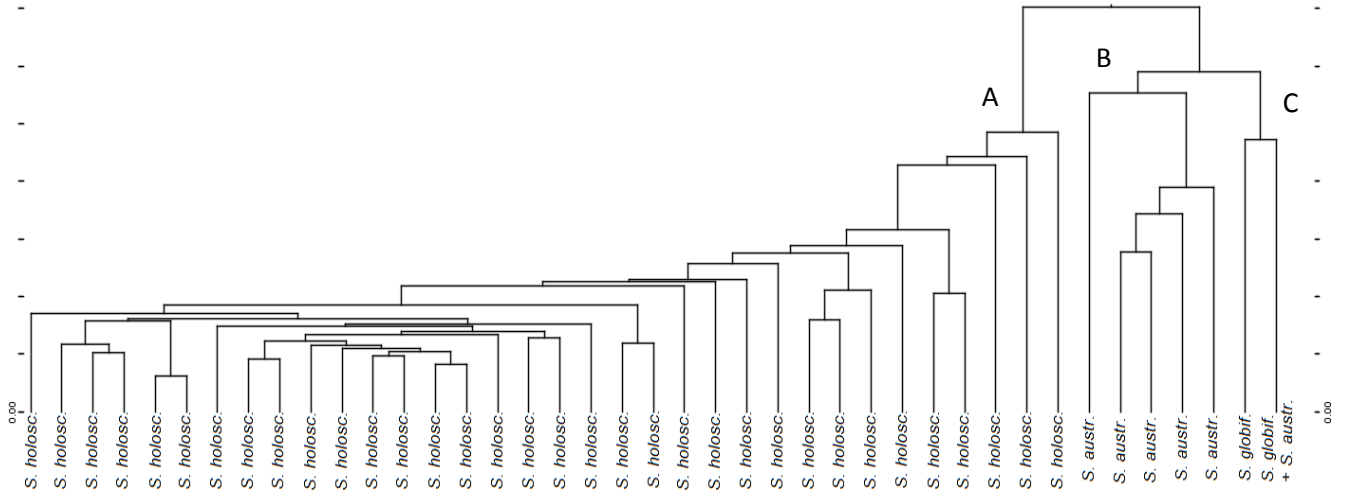
**Table 2:** Bioclimatic indices. **T** = annual mean temperature, **M** = mean daily maximum temperature of the coldest month, **m** = mean daily minimum temperature of the coldest month, **Tmax** = daily mean temperatures of the hottest month, **Tmin** = daily mean temperatures of the coldest month, **Pp** = above-zero precipitation Index (the sum of mean monthly precipitation for those months in which mean temperature is greater than 0°C), **Tp** = above-zero temperature Index (the sum of all monthly mean temperatures greater than 0°C, multiplied by 10), **PEs** = Thornthwaite's potential summer evapotranspiration, **Ps** = sum of the mean precipitation for the three summer months.

Climatic indices (abbreviation)	Formula
Thermicity Index (It )	$It = (T + M + m)10$
Continental Index (Ic)	$Ic = Tmax - Tmin$
Annual Ombrothermic Index (Io)	$Io = 10(Pp / Tp)$
Mediterraneity Index (Im)	$Im = PEs / Ps$
Annual Ombro-Evaporation Index (Ioe)	$Ioe = Pp / PEs$

**Table 3:** Diagnostic species of *Scirpoides* taxa.

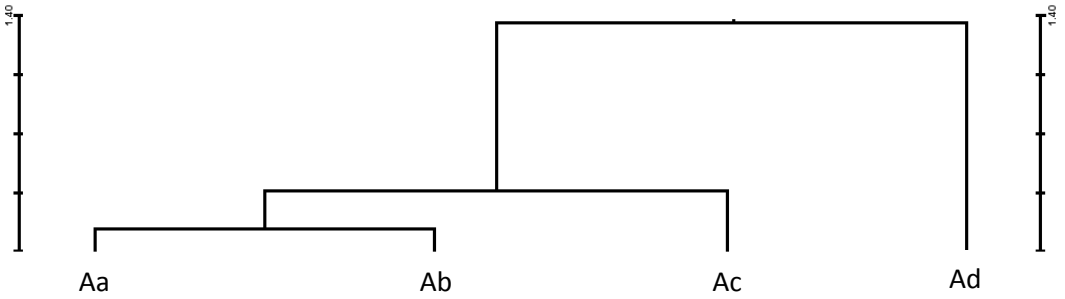
<b>Taxon</b>	<b>Diagnostic species</b>	<b>Phi (<math>\Phi</math>)</b>
<b><i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i> on base-poor soils</b>	<i>Agrostis pourretii</i> Willd	0.511
	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	0.495
	<i>Holcus lanatus</i> L.	0.441
	<i>Bromus hordeaceus</i> L.	0.436
	<i>Melica ciliata</i> L. subsp. <i>magnolii</i> (Gren. & Godron) Husnot	0.42
	<i>Agrostis castellana</i> Boiss. & Reuter	0.416
	<i>Galium parisiense</i> L.	0.416
	<i>Bromus matritensis</i> L.	0.34
	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i> (L.) Soják	0.292
	<i>Avena sterilis</i> L.	0.278
	<i>Carduus tenuiflorus</i> Curtis	0.252
	<i>Cyperus longus</i> L.	0.252
<b><i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i> on base-rich soils</b>	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i> (L.) Soják	0.488
	<i>Brachypodium phoenicoides</i> (L.) Roemer & Schultes	0.458
	<i>Cirsium monspessulanum</i> (L.) Hill subsp. <i>ferox</i> (Cosson) Talavera	0.385
	<i>Verbena officinalis</i> L.	0.334
	<i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.	0.306
	<i>Festuca fenas</i> Lag.	0.306
	<i>Dittrichia viscosa</i> (L.) W. Greuter	0.257
	<i>Potentilla reptans</i> L.	0.257
<b><i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i></b>	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i> (Murr.) Soják	0.9
	<i>Hypochaeris radicata</i> L.	0.38
	<i>Logfia arvensis</i> (L.) J. Holub	0.38
<b><i>Scirpoides globifera</i></b>	<i>Scirpoides globifera</i> (L.f.) Soják	1.000
	<i>Dittrichia viscosa</i> (L.) W. Greuter	0.427
	<i>Arundo donax</i> L.	0.371
	<i>Mentha pulegium</i> L.	0.307
	<i>Juncus acutus</i> L.	0.262

**Figure 1:** Classification of sites based on floristic data of *Scirpoides* taxa developing in the western Mediterranean. *S. holosc.* = *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* samples. *S. austr.* = *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis* samples. *S. globif.* = *Scirpoides globifera* samples.

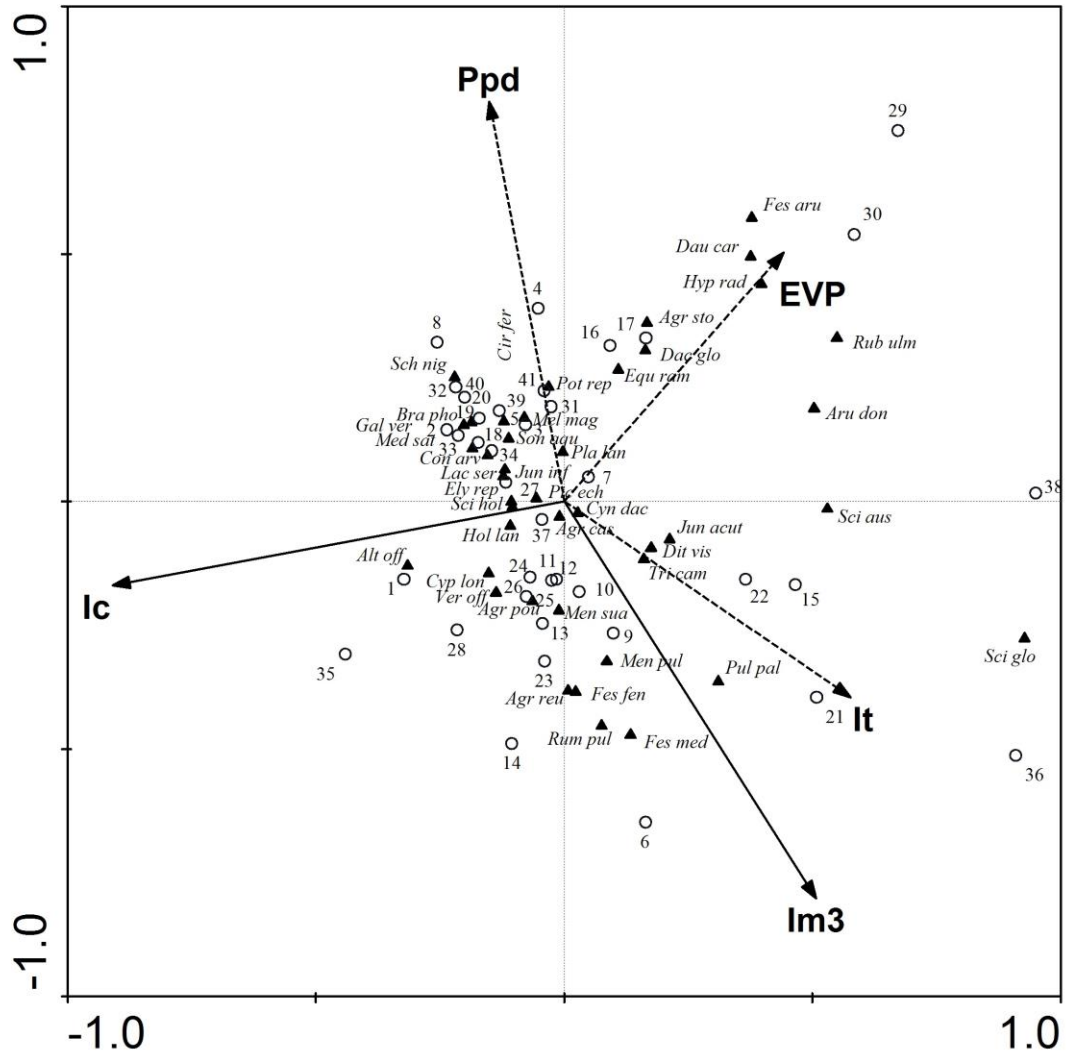




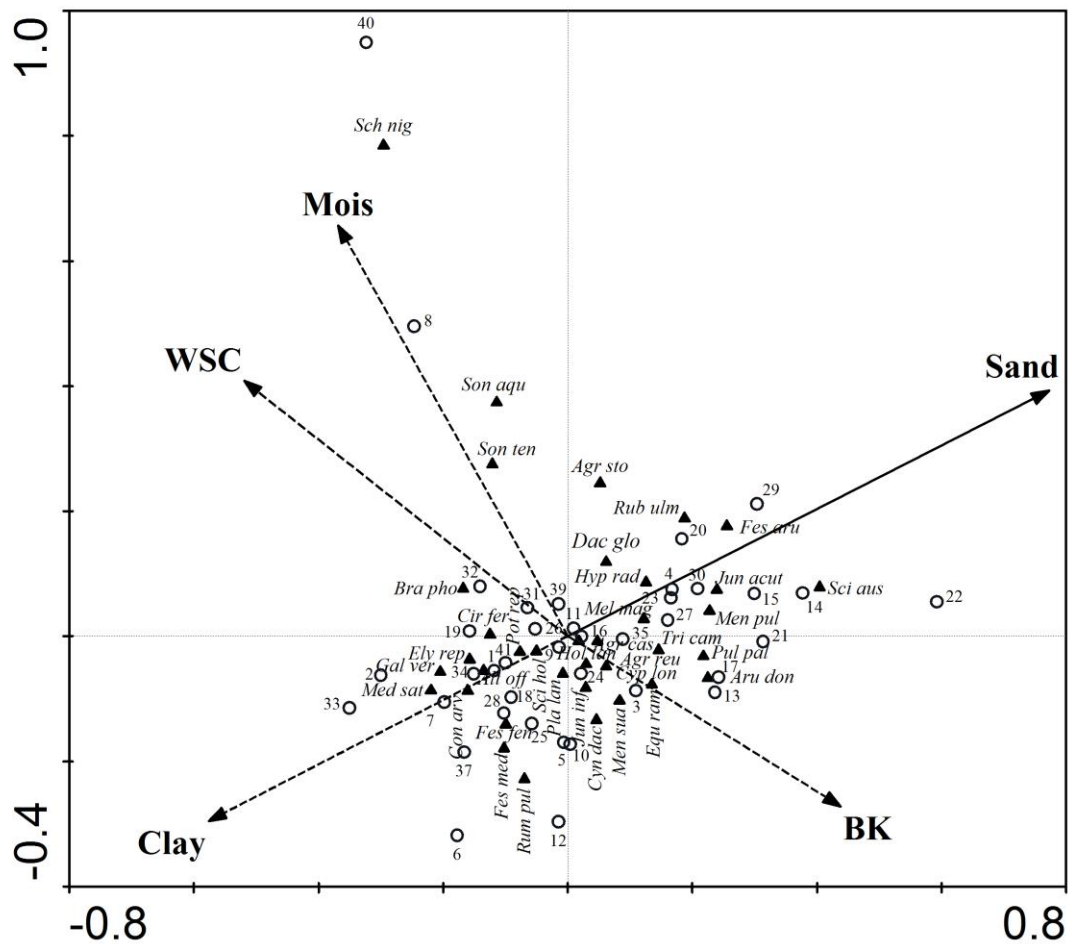
**Figure 2:** Classification of sites based on floristic data of *Scirpoides holoschoenus s.l.* samples developing in Iberian Peninsula.



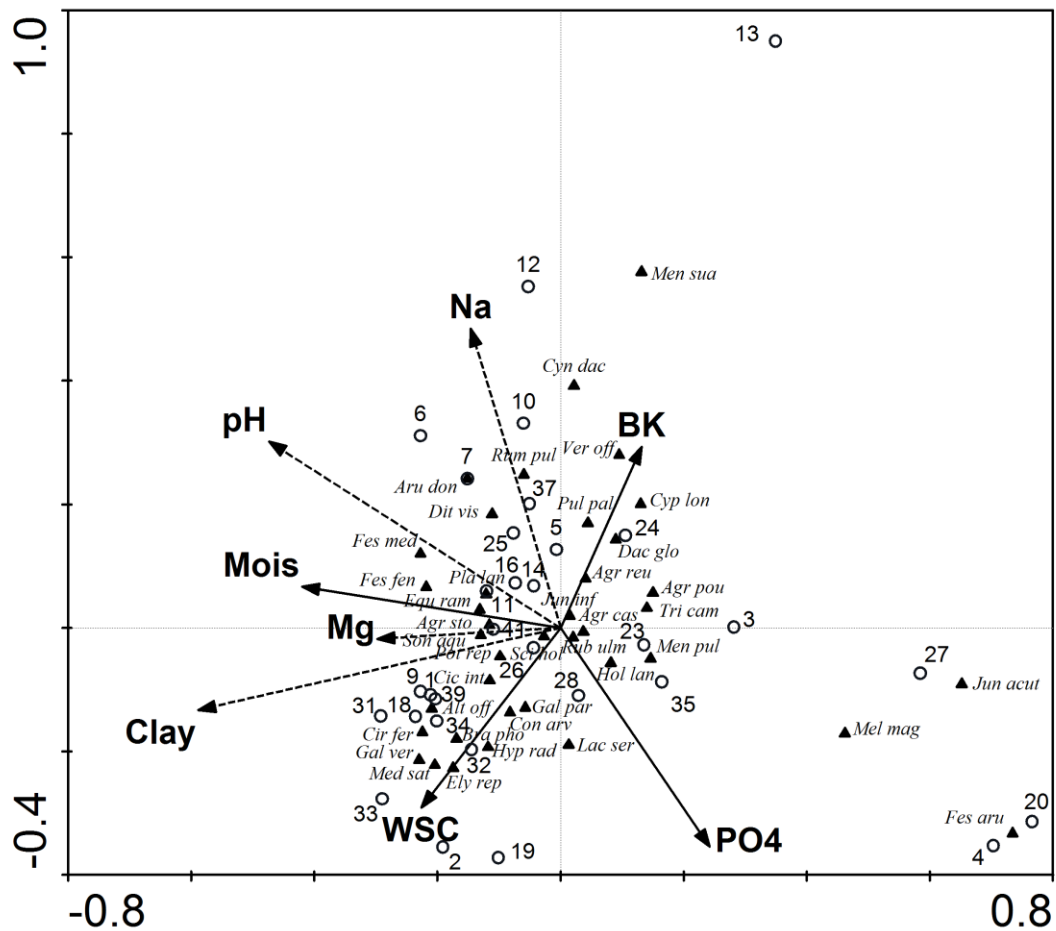
**Figure 3:** Species-conditional biplot of *Scirpoides* samples based on a CCA. The eigenvalues are 0.614 and 0.247 for axis 1 and axis 2, respectively. The displayed climate variables in continuous line are those significant in the Monte Carlo test. **P** = annual rainfall; **Io** = Annual Ombrothermic Index; **Im** = Mediterraneity Index; **It** = Thermicity Index.



**Figure 4:** Species-conditional biplot of *Scirpoides holoschoenus* s.l. samples based on a CCA. The eigenvalues are 0.471 and 0.360 for axis 1 and axis 2, respectively. The displayed soil variables in continuous line are those significant in the Monte Carlo test. **Mois** = Moisture; **WSC** = Water Soil Content; **BK** = Bulk Density.



**Figure 5:** Species-conditional biplot of *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* samples based on a CCA. The eigenvalues are 0.307 and 0.281 for axis 1 and axis 2, respectively. The displayed soil variables in dashed line are those significant in the Monte Carlo test. **Mois** = Moisture; **WSC** = Water Soil Content; **BK** = Bulk Density; **Na** = Sodium; **Mg** = Magnesium; **PO4** = Phosphates.









## CAPÍTULO 3

## CHAPTER 3





Fotografía: Trujillo (Cáceres).  
Ana I. Sánchez García-Madrid

# Diversity and classification of Mediterranean tall humid herb grasslands (*Molinio-Holoschoenion*) in Europe

Ana S. García-Madrid, Maria Pilar Rodríguez-Rojo, Paloma Cantó & José A. Molina

**García-Madrid, A.S.** (asgarciamadrid@farm.ucm.es), **Cantó, P.** (cantora@ ucm.es) & **Molina, J.A.** (corresponding author, jmabril@ucm.es): Department of Plant Biology II, Complutense University, E-28040 Madrid (Spain)

**Rodríguez-Rojo, M.P.** (MPilar.Rodriguez@uclm.es): Environmental Sciences Institute, University of Castilla-La Mancha, E-45071 Toledo (Spain)

## Abstract

**Questions:** What is the floristic diversity of Mediterranean tall humid herb grasslands (*Molinio-Holoschoenion*) in Europe? How it is organized into discrete groups? What are the relationships among those groups? How are they distributed in Europe? What underlying ecological patterns influence their diversity?

**Location:** Mediterranean Europe.

**Methods:** 1,566 relevés assigned to 102 *Molinio-Holoschoenion* associations or plant communities by different authors were gathered from European databases and bibliographic references. An alliance-delimitation exercise was done in order to discard those relevés that did not fit *Molinio-Holoschoenion* definition and could be better ascribed to other alliances. The refined dataset was stratified using heterogeneity-constrained random resampling and the resulting matrix was subjected to divisive clustering methods (K-means partitions). Rand index was applied to select the partition that achieved the best grouping of relevés when compared using formal syntaxonomic units to the association level. The vegetation groups resulting from the selected K-means partition were analysed in search of characteristic species at the plant-community level and submitted to subsequent analyses. The beta-flexible linkage method with Sørensen distance was used to obtain discrete vegetation units (Sub-groups) using the *phi* coefficient for the identification of diagnostic species. The Sub-group identified as the core of *Molinio-Holoschoenion* was superimposed on the ordination diagrams obtained from Detrended Correspondence Analysis to identify underlying ecological patterns driving its diversity.

**Results:** Based on the information on European *Molinio-Holoschoenion*, 20 groups gathered into three Sub-groups were recognized, largely based on physiognomic, soil, geographic and biogeographic traits. The first Sub-group was characterized by *Schoenus nigricans* communities, the second by rush meadows dominated by *Juncus acutus* or *Juncus maritimus*, and the third encompassed most of the relevés of *Molinio-Holoschoenion*, with *Scirpoides holoschoenus* and *Molinia arundinacea* communities. The water soil content was recognized as a major underlying gradient influencing the diversity and distribution of *Molinio-Holoschoenion*.

**Conclusions:** The classification of European *Molinio-Holoschoenion* highlights the Iberian Peninsula as a European hotspot for Mediterranean tall humid herb grasslands. Our work delimits the alliance from other close vegetation groups and establish *Molinio-Holoschoenion* floristic threshold.

**Keywords:** EC Habitats Directive; Grasslands; Mediterranean climate; Numerical classification; Plant-community types; Vegetation Databases.

**Nomenclature:** Tutin et al. (1964-1980), except for Cyperaceae, which follow The Plant List ([www.theplantlist.org/](http://www.theplantlist.org/), accessed on 8 Jan 2015), and genus *Molinia* which follows Dančák et al. (2012).  
Canarian flora follows Acebes et al. (2010).

**Running head:** Mediterranean tall humid herb grasslands of *Molinio-Holoschoenion*

## Introduction

*Molinio-Holoschoenion* was formerly defined as Mediterranean tall humid herb grasslands growing on non-saline or slightly saline soils with accessible groundwater by roots (Tchou 1948; Braun-Blanquet et al. 1952; Braun-Blanquet & Bolós 1957; García-Madrid et al. 2014). This vegetation includes rush meadows and tall grasses and herbs largely characterized by *Scirpoides holoschoenus*, *Molinia arundinacea* and *Schoenus nigricans* communities (Braun-Blanquet et al. 1952). *Molinio-Holoschoenion* is considered to be widespread throughout the entire Mediterranean basin extending westwards to the Macaronesian Islands (Azores, Madeira, and Canaries) and eastwards to the coasts of the Black Sea. In Europe, it is distributed throughout the Mediterranean countries including Portugal, Spain, France, Italy, Croatia and Greece. Despite the high number of associations or plant-community types described within the alliance (Gèhu 1999; Rivas-Martínez et al. 2011), knowledge of it is partial and fragmented at the European level.

The floristic composition of *Molinio-Holoschoenion* grasslands is primarily influenced by both the geochemical composition of the soil and the groundwater and moisture regimen (Bernáldez & Rey Benayas 1992; Muñoz-Reinoso 1995; Tziella et al. 2006; García-Madrid et al. 2010). *Molinio-Holoschoenion* is not only related to outflows of groundwater but is also shaped by anthropogenic influences (Rey Benayas & Scheiner 1993), since pastoral systems contribute to maintaining its characteristics in the intermediate stages of vegetation succession (Moreira et al. 2005). The semi-natural tall-herb humid meadows of *Molinio-Holoschoenion* constitute one of the habitat types meriting European interest for conservation (EC 2013, habitat code 6420). The most important ecological services this habitat provides include particularly the following: (i) they play an important role in flood control (Caballero et al. 2009; San Miguel 2009; Halada et al. 2011); (ii) they constitute a habitat for endangered species (Landete-Castillejos et al. 2000; Kati et al. 2012; García-Madrid et al. 2014); and (iii) they provide reserve grazing lands in late summer when most of the grasslands have dried up under the Mediterranean climate (Grootjans et al. 1988; Bernáldez et al. 1989).

In Europe, most of the classification studies on humid grassland vegetation based on statistical analyses focus on Temperate-climate *Molinietalia* meadows (Rodwell 1992; Botta-Dukat et al. 2005; Chytrý 2007; Janišová 2007; Hájek et al. 2008; Stančić 2008), but so far there are very few comparable studies on Mediterranean-climate *Molinio-Holoschoenion* grasslands (Braun-Blanquet et al. 1952; García-Madrid et al. 2014). Furthermore, a regional Mediterranean *Molinio-Holoschoenion* grasslands revision should be accompanied with a syntaxa delimitation since these grasslands are not clearly well delimited with other syntaxa (e.g. *Juncion maritimi*, *Caricion davallianae*, *Brachypodium phoenicoidis* and *Magnocaricion*) with which they can overlap in the form of transitional communities (Braun-Blanquet et al. 1952).

The main aim of this work is to provide a comprehensive classification of European *Molinio-Holoschoenion* communities through the application of numerical analyses to grassland datasets. The specific aims are: (a) to delimit the alliance and define boundaries with overlapping syntaxa; (b) to organize European *Molinio-Holoschoenion* information into discrete floristic groups (community types) and define their diagnostic species; (c) to show the floristic relationships among the community types;

and (d) to infer the underlying ecological patterns that best explain the variability of the floristic composition. The results provide the basis for conservation and restoration policies on a European scale. A study of this kind provides tools to compare the biodiversity of these communities with other regions, and to analyze environmental patterns on a larger scale.

## Methods

### Data preparation, alliance delimitation, and stratified resampling

Relevés were compiled by searching several databases and published sources by syntaxa. 65% of the relevés were taken from databases, of which 86% belong to the Iberian and Macaronesian Vegetation Information System (SIVIM, <http://sivim.info/sivi>) and the rest to other European databases (Vegetation Database Habitat of Italy, Database of Non-Forest Vegetation of Croatia, VegDunes, and Vegetation Database of the Cilento National Park, Appendix S1). Published relevés were used to cover the information for France and Greece and to fill in certain gaps in the lithological and climate ranges of *Molinio-Holoschoenion* grasslands; these were digitalized and used in this study. A composite table was built with 1,566 relevés and 1,513 species corresponding to 102 *Molinio-Holoschoenion* associations according to the assignments by the original authors. Phytosociological data were edited and managed through the QUERCUS program (B-VegAna, Font 2005). The initial dataset included in this list of relevés per country was 946 relevés from Spain and Portugal (including the Balearic and Canary Islands), 278 relevés from Italy (including Sardinia and Sicily), 222 relevés from France (including Corsica), 103 relevés from Greece (including Crete), and 17 relevés from Croatia. A general criterion for the aggregation of subspecies was followed in order to reduce the nomenclatural heterogeneity found in a number of species, which was a consequence of the dispersion of the sources. Some exceptions were considered in subspecies with a special importance in the alliance characterization (Appendix S2).

Because of the heterogeneity in the concept of the alliance *Molinio-Holoschoenion* among the authors, relevés were revised one by one to check if they fit *Molinio-Holoschoenion* definition and requirements or could be better ascribed to other syntaxa. Some criteria were applied to delimit a subset of plots that represent homogenous vegetation types. This selection was based on the following floristic, physiognomic and climatic criteria: (a) only relevés that contained at least four diagnostic species of *Molinio-Holoschoenion* as described in the literature (Braun-Blanquet et al. 1952; Rivas-Martínez et al. 2011; EC 2013, Appendix S3) were considered; (b) all the selected relevés were restricted to Mediterranean climate according to the bioclimatic classification of Rivas-Martínez (2007); as sub-Mediterranean climate is considered a variant of Temperate climate and not of Mediterranean climate, those relevés under sub-Mediterranean climate were discarded; (c) selected relevés contained a high cover (80 % of total cover) of tall grasses, sedges, rushes or megaphorbs following the EU Habitat definition (“tall humid herb grasslands”, EC 2013), capable of covering *Molinio-Holoschoenion* ecological services, such as constituting grazing lands, and then excluding shrublands, unpalatable or clearly nitrophilous vegetation; (d) relevés with a higher contribution of characteristic species of other overlapping vegetation types (e.g. *Juncion maritimi*, *Magnocaricion*, *Caricion davallianae*) were omitted. After data filtering, a

total of 56 associations, as assigned by the original authors, were selected as true *Molinio-Holoschoenion* communities (a summary list is provided in Appendix S4). The alliance-delimited dataset was composed by 980 relevés and 1,075 species. The dataset composition per country was 809 relevés from Spain and Portugal (including the Balearic and Canary Islands), 82 relevés from France (including Corsica), 69 relevés from Italy (including Sardinia and Sicily), 19 relevés from Greece (including Crete), and 1 relevés from Croatia.

We stratified the alliance-delimited dataset by biogeographic sectors according to the classification approaches published for the Iberian Peninsula (Rivas-Martínez 2007), France (Julve 1999) and Italy (Blasi & Frondoni 2011). For the rest of countries (Croatia and Greece), the dataset were stratified by sub-provinces (Rivas-Martínez et al. 2004) because the distribution of their relevés occupied very small extensions limited to coastal dunes. Within these strata, we performed heterogeneity-constrained random (HCR) resampling using Bray-Curtis distance (Lengyel et al. 2011), in order to reduce over-sampling and pseudoreplication and to equalize the biogeographical representativeness of the data. The computer program R (R Core Team 2013) was used as implemented in JUICE (Version 7.0, L. Tichý, [www.sci.muni.cz/botany/juice](http://www.sci.muni.cz/botany/juice)). The number of selected relevés was determined by beta-diversity within strata (Bray-Curtis similarity index) following Wiser & De Cáceres (2013), and the number of relevés to be resampled was set within the range of 5 to 15 per stratum. The resampled dataset contained 391 relevés and 874 species, corresponding to the 39.9 % of the initial dataset, and maintaining equal proportions of relevés for each country.

## Numerical analyses

A polythetic divisive non-hierarchical clustering such as the K-means clustering was used in order to obtain a reasonable estimate of how many groups to expect in the data. Previously, abundance coefficients were transformed into the ordinal scale of Van der Maarel (1979). K-means partitions considering values from 25 to 70 groups were calculated using the GINKGO program (B-VegAna, De Cáceres 2003, <http://biodiver.bio.ub.es/veganaweb>). The range of groups was chosen on the basis of the groups resulting from previous local studies (García-Madrid et al. 2014) and the number of associations or plant community types described in Europe. These 46 resulting partitions were compared to the partition of the data corresponding to 54 phytosociological associations obtained after stratification, in order to produce an optimal grouping of the relevés. Rand index was used for this comparison. The K-means partition with the highest value of Rand index was chosen as the partition that achieved the best grouping of the relevés. Comparative analysis between K-means partitions and the hypothesis of 54 groups showed that the best value of Rand index was obtained by the K-means partition of the data corresponding to 27 groups (Appendix S5). Five groups composed by only one relevé and two groups without neither floristic nor ecological consistency were taken here as outliers and discarded. For the calculation of diagnostic species values at the plant community level, the size of the clusters was standardized to equal size of 30% of the data set (Tichý & Chytrý 2006). We only show the diagnostic species with values of the  $\phi$   $\Phi$ -coefficient of association  $\geq 0.25$  for at least one cluster and with a statistically significant affinity at the probability level  $<0.001$  according to Fisher's exact test. Species



with  $\Phi > 0.5$  were termed highly diagnostic. This analysis allowed us to evaluate the taxonomic consistency of the new plant-community groupings.

Agglomerative hierarchical clustering was performed to organize the information into discrete floristic units or Sub-groups, to detect main patterns of the structure of the dataset, and to determine how the plant diversity is distributed (Van Tongeren 1995; McGarigal et al. 2000). Beta-flexible linkage method (beta= -0.25) with Sørensen distance were used as algorithms. Diagnostic species of the vegetation Sub-groups were estimated using the same method as for the plant-community types, through the calculation of fidelity, measured with the *phi*  $\Phi$ -coefficient, of species to the group of relevés belonging to a particular Sub-group. Only species with  $\Phi > 0.25$  and probability of the observed pattern of species occurrence under random expectation lower than 0.001 (Fisher's exact test) were considered diagnostic of the association. Species with  $\Phi > 0.5$  were termed highly diagnostic.

The subset of relevés corresponding to the Sub-group identified as the core of *Molinio-Holoschoenion* was submitted to a DCA analysis with down-weighting rare species, in order to generate ordination plots for the interpretation of data variability and the weight of indicator species, and to infer the underlying ecological patterns that best explain this variability.

## Results

20 groups resulted from the K-means classification (Table 1). Most of the groups were related to a former phytosociological association or group of associations. K-means classification largely distinguished groups that were not only physiognomically (rushes, grasslands, megaphorbs), but also geographically (coastal ecosystems, inland ecosystems) and biogeographically differentiated (Mediterranean, western Mediterranean, central Mediterranean, Iberian, and Macaronesian).

Hierarchical classification showed that the plant-community types resulting from the k-means partitions were grouped into three main classification units or Sub-groups (Table 1; Fig. 1). Sub-group 1 (85 relevés) showed as diagnostic species *Schoenus nigricans*, *Dittrichia viscosa*, and *Saccharum ravennae*. It grouped four communities that were dominated by *S. nigricans*, (Communities 1 and 2), *S. ravennae* (Community 3), and *Scirpoides holoschoenus* and *Galium viridiflorum* (Community 4), on base-rich soils. *S. holoschoenus* was a highly recurrent species in the four communities, while *Juncus acutus* was very abundant in the first two communities, which were differentiated by the mostly coastal character of the first community and the inland grassland character of the second community. Both communities had wide distribution ranges, as the first was found throughout the Mediterranean basin and the second in the western Mediterranean. Community 3 showed floristic similarities with Communities 1 and 2, also with a relevant presence of *J. acutus*, and was distributed throughout the Mediterranean basin. Community 4 represented a well-characterized association (*Galio viridiflori-Schoenetum nigricantis*) with a unique ecology, as it grows on serpentinicolous soils limited to southern Iberian Peninsula.

Sub-group 2 (49 relevés) included three communities on sub-saline soils (Community 5, Community 6 and Community 7) with *Juncus maritimus* and *J. acutus* as diagnostic species. Communities 5 and 6 were dominated by *J. acutus*, accompanied by *S. holoschoenus* and *J. maritimus* in Community 5, which showed a mainly coastal western Mediterranean distribution, while in the case of

Community 6, *S. holoschoenus* was replaced by other *Scirpoides* species (*S. globifera*), which restricted its distribution range to the Canary Islands. This community showed a high consistency as it grouped all the relevés ascribed to only one previously described association (*Scirpo globiferi-Juncetum acuti*). Community 7 was dominated by *J. maritimus* and had a coastal and inland western Mediterranean distribution.

Sub-group 3 (238 relevés) encompassed most of the relevés included in this study. It consists of three main units: (3a) *Molinia arundinacea* grasslands (Communities 8 to 10); (3b) Forbs and grasslands dominated by *Ranunculus macrophyllus* (Community 11), *Peucedanum hispanicum* (Community 12), *Imperata cylindrica* (Community 13) or *Festuca arundinacea* subsp. *mediterranea* (Community 14), respectively; and (3c) *Scirpoides holoschoenus* grasslands accompanied by other diagnostic species such as, *Cirsium monspessulanum*, *Cirsium pyrenaicum*, *Senecio doria* subsp. *laderoi*, *Sonchus maritimus* subsp. *aquaticus*, and *Lysimachia ephemerum* (Communities 15 to 20).

In unit 3a, Community 8 grouped *Molinia* grassland vegetation with a high presence of *S. holoschoenus* and *S. nigricans*, and with a predominantly base-rich eastern Iberian distribution that reached southern France. Community 9 was characterized by *Succisa pratensis* and *Silaum silaus* and by growing mainly on loamy soils from northeastern Iberian Peninsula and southern France. Community 10 had a high presence of *S. maritimus* subsp. *aquaticus*, *Hypericum caprifolium* and *Brachypodium sylvaticum*; this community was restricted to base-rich soils from the southern Iberian Peninsula.

In unit 3b, *S. holoschoenus* was present in most of the relevés of Communities 11 (Forbs of *R. macrophyllus* on base-rich soils from the eastern Iberian Peninsula) and 13 (Forbs of *I. cylindrica* of the western Mediterranean). Community 12 (Forbs of *P. hispanicum* on base rich soils from southeastern Iberian Peninsula) was characterized by *Cirsium pyrenaicum* var. *longespinosum* and *Mentha suaveolens*. Community 14 (Grasslands of *F. arundinacea* subsp. *mediterranea*) had a limited distribution to base-rich soils from southern Iberian Peninsula. Communities 11 and 14 showed a high consistency as they grouped relevés ascribed to only one previously described association (*Geranio dissecti-Ranunculetum macrophylli* and *Poo sylvicolae-Festucetum atlantigenae*, respectively).

Unit 3c encompassed six *S. holoschoenus* grasslands types. Community 15 represented a *S. holoschoenus* vegetation type characterized by *Equisetum ramosissimum*, *Juncus articulatus* and *Carex distans* that was present only on base-rich soils from southern Italy. In Community 16, *S. holoschoenus* was accompanied by *Cirsium pyrenaicum* var. *pyrenaicum* and *S. doria* subsp. *laderoi*, constituting a community distributed on northern Iberian Peninsula under Supra-Mediterranean climate and on base-rich soils. Community 17 was characterized by the presence of *L. ephemerum* and *M. arundinacea*; ecologically, it grows mainly on seepage slopes on carbonated soils from the eastern Iberian Peninsula. Community 18 is a typical western Mediterranean grassland type of *S. holoschoenus* well characterized by *Cirsium monspessulanum* subsp. *ferox*. Community 19 constituted western Mediterranean grasslands of *S. holoschoenus* characterized by plants such as *Mentha suaveolens* and *Juncus inflexus* indicating a grassland type subjected to high grazing influence. Community 20 included base-poor grasslands of *S. holoschoenus* widely distributed throughout the Mediterranean basin.

Cluster analysis (Fig. 1) showed a underlying ecological gradient related to soil moisture. In most of the groups *S. holoschoenus* was highly recurrent, constituting the dominant species or

accompanying other dominants such as *M. arundinacea* or *S. nigricans*. Floristically, six groups were dominated by *Scirpoides holoschoenus*, three groups by *Molinia arundinacea*, two groups by *Schoenus nigricans*, two groups by *Juncus acutus*, one group by *Juncus maritimus* and six groups corresponded to grasslands and forbs dominated by different species. Three groups were found throughout the European Mediterranean basin (from Iberian Peninsula to Greece), eight groups were distributed through the western Mediterranean, one group through the central Mediterranean (Italy) but no groups restricted to the eastern Mediterranean were found. Seven groups were restricted to the Iberian Peninsula and one to the Canary Islands.

The number of characteristic species (Table 1) varied from 26 in the Grasslands of *Molinia arundinacea* with *Succisa pratensis* and *Silaum silaus* (Community 9) to one in the Rush grasslands of *Schoenus nigricans* with *Dittrichia viscosa*, *Scirpoides holoschoenus*, and *Molinia arundinacea* (Community 2), the Rush meadows of *Juncus acutus*, *Juncus maritimus* and *Scirpoides holoschoenus* (Community 5), the Grasslands of *Molinia arundinacea* with *Schoenus nigricans* and *Scirpoides holoschoenus* (Community 8), and the Rush meadows of *Scirpoides holoschoenus* with *Holcus lanatus* (Community 20). All the plant-community types had at least one diagnostic species and most of the communities save at least one indicator species of the meadows and grasslands of the *Molinio-Arrhenatheretea* class (except community 6; Table 1).

The DCA diagram showed the floristic relationships among the 13 communities of the unit 3c (Sub-group 3, Fig. 2). As the gradient length of the first DCA axis was 4.8 s.d. (standard deviation) units, the use of unimodal ordination is quite appropriate. *Molinia arundinacea* grasslands (Communities 8, 9 and 10) and species such as *Succisa pratensis*, *Tetragonolobus maritimus* and *Sonchus maritimus* subsp. *aquaticus*, which are related to moister soils, were positioned on the extreme negative part of the axis 1. In contrast, *Scirpoides holoschoenus* rush meadows and species able to withstand longer seasonal drought and a higher grazing pressure (e.g., *Plantago lanceolata*, *Trifolium resupinatum* and *Cynodon dactylon*) were positioned on the extreme positive part of the axis (Community 20). Thus it can be inferred that the first DCA axis is negatively correlated with a water soil gradient. The second DCA gradient could not be related with any environmental gradient.

## Discussion

### *Re-evaluation of the syntaxonomical definition of the alliance*

*Molinio-Holoschoenion* was described for Mediterranean France by Braun-Blanquet ex Tchou (1948) as rushes of *S. holoschoenus*, and tall grasses and herbs with high water soil content and permeable or not permeable carbonated soils. Previously, Braun-Blanquet (1931) outlined the alliance through the description of the ancestral *Holoschoenion*, which this author considered as European grassland groups distributed through the northern part of the Mediterranean Europe, including mountains, and that had a close relationship to *Arrhenatheretalia* grasslands. According to Braun-Blanquet (1931), alliance *Holoschoenion* included rushes of *S. holoschoenus* and grassland on river banks while other grasslands including those of *M. arundinacea* were reunited into the middle-European alliance *Molinion*

which could occur under Mediterranean or Temperate climate. Tchou (1948) recognized that those grasslands with *M. arundinacea* and/or *S. nigricans* under Mediterranean climate and rich in diagnostic species of temporary flooded soils shared the same habitat as Braun-Blanquet's *Holoschoenion*, and created *Molinio-Holoschoenion*. In our results, plant-communities dominated by *M. arundinacea* showed a close relationship to those dominated by *S. holoschoenus*, constituting together the core of *Molinio-Holoschoenion* (Sub-group 3, Fig. 1). This result supports Tchou's definition and *Molinio-Holoschoenion* delimitation to Mediterranean climate.

According to our results, *Molinio-Holoschoenion* can be divided into three Sub-groups (Fig. 1): the first including *S. nigricans* communities (Sub-group 1), the second with *J. acutus* and *J. maritimus* rushes (Sub-group 2), and the last one, the above mentioned core of *Molinio-Holoschoenion* (Sub-group 3). In the case of Sub-group 1, the dominant species (*S. nigricans*) shows a wide ecological range, as it can be found in different vegetation types such as mires, bogs or grasslands (Rivas-Martínez et al. 2011). In our study case, we have only included relevés of *S. nigricans* that shared *Molinio-Holoschoenion* habitat and this species was always accompanied by other grassland species such as *D. viscosa*, *S. holoschoenus*, *S. maritimus* subsp. *aquatilis* or *Carex flacca*. In our results, *S. nigricans* communities belonging to the alliance *Molinio-Holoschoenion* constitute a Sub-group characterized by moister soils, as revealed by the ecological gradient identified in the cluster analysis (Fig. 1). This result is also supported by the position of *S. nigricans* in the DCA performed to Sub-group 3 (Fig. 2), which highlights this species in a close position to *M. arundinacea*, which is related with a high water requirement.

In the case of Sub-group 2, *J. acutus* and *J. maritimus* are species that have traditionally been considered characteristics of *Juncetea maritimi* by authors such as Braun-Blanquet et al. (1952). Nevertheless, Rivas-Martínez et al. (1980) placed those communities with *J. acutus* and/or *J. maritimus* growing on non-saline sandy soils and that are characterized by the lack of halophytes in the alliance *Molinio-Holoschoenion*. Later, Herrera (1995) recognized Rivas-Martínez's communities as part of *Molinio-Holoschoenion* habitat and suggested their inclusion into a new Sub-alliance (*Juncus acuti-Holoschoenion*), that grouped *Molinio-Holoschoenion* communities with certain requirements of soil salinity but lacking halophytes in their floristic composition. The sub-saline character of these communities has been recognized by other authors such as Muñoz-Reinoso (1995) which said that *J. acutus* and *J. maritimus* communities belonging to *Molinio-Holoschoenion* were associated to mineralized groundwater. Herrera (1995) also suggested a floristic and ecological similarity between these sub-saline communities and two other associations described by Géhu & de Foulcault (1982) for the French Atlantic coasts: *Holoschoeno-Schoenetum nigricantis* and *Holoschoeno-Caricetum trinervis*. In our results, *J. acutus* and *J. maritimus* communities constitute a Sub-alliance in *Molinio-Holoschoenion* similar to the one proposed by Herrera (1995) but limited to Mediterranean climate and reuniting all *Molinio-Holoschoenion*'s requirements. This Sub-group differs from *Juncetea maritimi* communities in its sub-saline character (including the lack of halophytes) and from Géhu & de Foulcault's communities in its Mediterranean distribution, as Géhu & de Foulcault's Atlantic communities should be placed in other syntaxa such as *Caricion davallianae*. In the case of Sub-group 3, the core of *Molinio-Holoschoenion* is composed by *M. arundinacea* damp grasslands, *S. holoschoenus* rushes and a set of grasslands growing on *Molinio-Holoschoenion* habitat. The grassland vegetation here included in *Molinio-Holoschoenion*

encompassed four communities (Communities 11 to 14) characterized by growing on base-rich soils mostly limited to the Iberian Peninsula (except Community 13, which had a wider distribution). The latest classification of *Molinio-Holoschoenion* (Rivas-Martínez et al. 2011) is focused on the Iberian Peninsula and included 13 grasslands dominated by species different from *S. nigricans*, *J. acutus*, *J. maritimus*, *M. arundinacea* or *S. holoschoenus*. The difference between both classifications resides in our alliance-delimitation method as we have considered that some of Rivas-Martínez's communities should be placed in other alliances different from *Molinio-Holoschoenion*, because of their floristic composition (e.g. *Geo rivales-Cirsietum rosulati*) or their shrublands character (e.g. *Junco rugosi-Ericetum andevalensis*).

There is only one previous study that classified numerically *Molinio-Holoschoenion* and evaluated its conservation interest (García-Madrid et al. 2014). This study was focused on the Iberian Peninsula (including Spanish Balearic and Canary Islands) as study area and recognized six vegetation units in *Molinio-Holoschoenion*: (1) rushes of *S. holoschoenus* on base-poor soils; (2) rushes of *S. holoschoenus* on base-rich soils; (3) temperate climate rushes; (4) southern Iberian grasslands; (5) halophilous rushes; and (6) *M. arundinacea*/*S. nigricans* communities. In García-Madrid et al. (2014), *M. arundinacea* communities were closer to *S. nigricans* communities than to the rushes of *S. holoschoenus*, although the three Sub-groups here proposed are outlined (Sub-group 1 has similarities with vegetation unit 6, Sub-group 2 with vegetation unit 5, and Sub-group 3 groups vegetation reunites 1, 2, 4 and part of the 6). The differences between both classifications could be explained by the exclusion of the analysis of those communities previously classified as *Molinio-Holoschoenion* but not-fitting its definition, such as the vegetation unit 3.

#### *Alliance distribution considerations*

In our study, the information obtained from European databases showed that the bulk of the *Molinio-Holoschoenion* relevés come from the Iberian Peninsula which also turned out to be the largest contributor to the community diversity of this alliance in Europe. This uneven phytosociological sampling intensity and community diversity, compared to other Mediterranean countries, can be explained by the larger extension of the Mediterranean climate in the Iberian Peninsula, and a high diversity of biotopes where Mediterranean grasslands grow (coastal and inland; sub-saline and non-saline; calcareous, siliceous and ultramaphic soils). In consequence, *Molinio-Holoschoenion* has a greater extension and diversity in the western Mediterranean than in the eastern part. Similar patterns are observed in other Mediterranean habitats, as it is the case of the Mediterranean temporary ponds (Quézel 1998). It is also worth noting that *Molinio-Holoschoenion* is specifically designated in the European Habitats Directive as Mediterranean tall humid herb grasslands particularly present in dune systems, to which it appears to be ecologically restricted. However it is known to be widespread within permanent communities on the margins of different types of wetlands or as serial stages of some riparian forest on the Iberian Peninsula (Rivas-Martínez 2011; García-Madrid et al. 2014).

In addition to the above, another relevant point is to understand the proportional contribution of European countries to *Molinio-Holoschoenion*. In view of the large extension of Mediterranean-climate areas in northwest Africa (the Maghreb), and the existence of two species of rounded-headed club rushes

(*S. holoschoenus* and *S. globifera*, this latter extending as far as the Canary Islands and north Morocco), it can be inferred that the northwest part of the Mediterranean basin may host a considerable extension and diversity of *Molinio-Holoschoenion* communities.

#### *Diagnostic species*

According to our results, most of the plant-community groups had at least one of the diagnostic species of *Molinio-Holoschoenion*, *Holoschoenetalia* or *Molinio-Arrhenatheretea* identified by Braun-Blanquet et al. (1952), Rivas-Martínez et al. (2011) and/ or recognized by the Interpretation Manual of European Union Habitats (EC 2013) in common with the ones obtained in our analyses. Of the three consulted sources, EC (2013) was the most recent analysis of *Molinio-Holoschoenion* diagnostic species. Although EC (2013) recognized as characteristic of the alliance a wide range of species that could be associated to other alliances while also form part of *Molinio-Holoschoenion* habitat (e.g., *J. acutus*, *J. maritimus*), some of the species in that list were not identified neither by our study nor by the other sources as *Molinio-Holoschoenion* characteristics (e.g., *Cyperus longus*, *Melica cupanii*; Appendix S3). Those species, together with others such as *Eupatorium cannabinum* should not be considered in *Molinio-Holoschoenion* alliance. Only Community 6 (Canarian rush meadows of *J. acutus* and *S. globifera*, Sub-group 2) did not have any diagnostic species in common with the traditional or new ones. Despite of this fact, this community had diagnostic species in this study, was rich in other traditional diagnostic species in their floristic composition and was clearly included in *Molinio-Holoschoenion* habitat. In Community 6, the lack of concordance in the diagnostic species could be explained because the species of the genus *Scirpoides* present in this community is *S. globifera* and not *S. holoschoenus*. This species has traditionally been considered as a subspecies of *S. holoschoenus*. Although Rivas-Martínez et al. (2011) recognized *S. holoschoenus* subsp. *australis* as diagnostic of a Sub-alliance named *Brizo-Holoschoenenion* by those authors, *S. globifera* is not included in any previous analysis of *Molinio-Holoschoenion* diagnostic species. Another fact is that Community 6 is only distributed in the Canary Islands. That means it is composed mainly by typical Canarian flora (most of the times endemisms) which are not considered by the traditional or new lists of *Molinio-Holoschoenion* diagnostic species.

#### *Vegetation gradients*

Our results revealed that soil moisture is the major latent driver in explaining the diversity of the core of *Molinio-Holoschoenion* at geographically different scales (Fig. 2). This environmental gradient has also been pointed out for diversification in other European hygrophilous vegetation (Molina & Moreno 2003; Molina et al. 2003). Previous studies on *Scirpoides holoschoenus* rush meadows on a regional scale (Iberian Peninsula) revealed soil-soluble ion content as a major driver of floristic composition (García-Madrid et al. 2010). On a supranational scale, our results also highlighted the water table regime —closely related to the flooding period— as the most important latent environmental factor in explaining floristic plant community distribution (García-Madrid et al. 2014). Some hygrophytic terrestrial communities such as those corresponding to helophytic vegetation (*Phragmitetea*) or to mire



vegetation (*Scheuchzerio-Caricetea*) require a prolonged regime of soil humidity. Further research into the water table fluctuations conditioning *Molinio-Holoschoenion* vegetation are needed to properly characterize this alliance and distinguish it from others in ecological terms.

We conclude that Mediterranean tall humid herb grasslands of *Molinio-Holoschoenion* are largely composed by three Sub-groups distributed along a soil moisture gradient. Rush meadows with *Scirpoides holoschoenus* and damp grasslands of *Molinia arundinacea*, together with four grassland communities, comprise the main Sub-group as it can be considered the core of *Molinio-Holoschoenion*. This new classification establishes *Molinio-Holoschoenion* floristic threshold in relation to other syntaxa as well as it limits the alliance to the Mediterranean climate.

## **Acknowledgements**

We thank the Complutense University of Madrid for a grant to Ana S. García-Madrid. We would also like to thank Michele De Sanctis et al. (Vegetation Database Habitat of Italy), Zvezdana Stancic (Phytosociological Database of Non-Forest Vegetation in Croatia), Alicia Costa et al. (VegDunes Database), Leonardo Rosati et al. (Vegetation Database of the Cilento National Park) and Xavier Font et al. (SIVIM Database) for providing us relevés from their corresponding databases.

## References

- Acebes, J.A., León, M.C., Rodríguez, M.L., del Arco, M., García, A., Pérez de Paz, P.L., Rodríguez Delgado, O., Martín Osorio, V.E. & Wildpret, W. 2010. *Pteridophyta, Spermatophyta*. In: Arechaveleta, M., Rodríguez, S. Zurita, N. & García, A. (coords.) *Lista de especies silvestres de Canarias. Hongos, plantas y animales terrestres*, pp. 122-172. Gobierno de Canarias, Spain.
- Bernáldez, F.G. & Rey Benayas, J.M. 1992. Geochemical relationships between groundwater and wetlands soils and their effects on vegetation in central Spain. *Geoderma* 55: 273–288.
- Bernáldez, F.G., Rey Benayas, J.M., Levassor, C. & Peco, B. 1989. Landscape ecology of uncultivated lowlands in central Spain. *Landscape Ecology* 3: 3–18.
- Blasi, C. & Frondoni, R. 2011. Modern perspectives for plant sociology: The case of ecological land classification and the ecoregions of Italy. *Plant Biosystems* 145: 30–37.
- Botta-Dukát, Z., Chytrý, M., Hájková, P. & Havlová, M. 2005. Vegetation of lowland wet meadows along a climatic continentality gradient in central Europe. *Preslia* 77: 89–111.
- Braun-Blanquet, J. 1931. Aperçu des groupements végétaux du Bas-Languedoc. *Commun. Stat. Inst. Géobot. Médit. Montpellier* 9: 35–40.
- Braun-Blanquet, J., Roussine, N. & Negre R. 1952. *Les Groupements Végétaux de la France Méditerranéenne. Prodrôme des Groupements Végétaux de la France*. 297 pp. Centre National de la Recherche Scientifique, CNRS, Paris.
- Braun-Blanquet, J. & Bolòs, O. de. 1957. Les groupements végétaux du bassin moyen Del l'Ebre et leur dynamisme. *Anales de la Estación Experimental de Aula Dei* 5: 1–266.
- Caballero, P., Fernández-González, F., Badia, R.P., Molle, G., Roggero, P.P., Bagella, S., D'Ottavio, P., Papanastasis, V.P., Fotiadis, G., Sidiropoulou A. & Ispikoudis, I. 2009. Grazing systems and biodiversity in Mediterranean areas: Spain, Italy and Greece. *Pastos* 39: 9–53.
- Chytrý, M. (ed.). 2007. *Vegetace České republiky 1. Travinná a keříčková vegetace*. Academia, Praha, CZ.
- Dančák, M., Duchoslav, M. & Trávníček, B. 2012. Taxonomy and cytogeography of the *Molinia caerulea* complex in central Europe. *Preslia* 84: 351–374.
- De Cáceres, M., Oliva, M. & Font, X. 2003. *GINKGO, un programa de análisis multivariante orientado a la clasificación basada en distancias*. XXVII Congreso Nacional de Estadística e Investigación Operativa. Lleida, April 2003.
- Dengler, J., Jansen, F., Glöckler, F., Chytrý, M., De Cáceres, M., Ewald, J., Oldeland, J., Peet, R.K., Finckh, M., Mucina, L., Schaminée, J. & Spencer, N. 2011. The Global Index of Vegetation-Plot Databases (GIVD): a new resource for vegetation science. *Journal of Vegetation Science* 22/4, 582–597.
- European Commission (EC) 2013. *Interpretation manual of European Union Habitats – EUR 28*. European Commission. DG Environment, Brussels, BE.
- Font, X. 2005. La gestión de la biodiversidad mediante bases de datos en línea y el programario B-VegAna. *Recursos Rurais, Serie Cursos* 2: 65–72.
- García-Madrid, A.S., Molina, J.A., Casermeiro, M.A., De la Cruz, M.T. & Cantó, P. 2010. Relaciones entre los parámetros físico-químicos del suelo y la vegetación en juncales de *Scirpoides holoschoenus*. *Lazaroa* 31: 99–107.
- García-Madrid, A.S., Molina, J.A. & Cantó, P. 2014. Classification of habitats highlights priorities for conservation policies: the case of Spanish Mediterranean tall humid herb grasslands. *Journal of Nature Conservation* 22: 142–156.
- Gèhu, J.M. 1999. Synsystème des prairies de France (Synsystematic of the meadows of France). *Annali di Botanica* LVII: 15–30.

- Gèhu, J.M. & De Foucault, B. 1982. Analyse phytosociologique et essai de chorologie de l'hygrosère des dunes atlantiques françaises. *Documents phytosociologiques* 7: 387–398.
- Grootjans, A.P., Diggelen, M., Wassen, J. & Wiersinga, W.A. 1988. The effects of drainage on groundwater quality and plant species distribution in stream valley meadows. *Plant Ecology* 72: 37–48.
- Hájek, M., Hájková, P., Sopotlieva, D., Apostolova, I., & Velev, N. 2008. The Balkan wet grassland vegetation: a prerequisite to better understanding of European habitat diversity. *Plant Ecology* 195: 197–213.
- Halada, L., Evans, D., Romão, C. & Petersen, J.E. 2011. Which habitats of European importance depend on agricultural practices? *Biodiversity and Conservation* 20: 2365–2378.
- Herrera, M. 1995. Estudio de la vegetación y flora vascular de la cuenca del Río Asón (Cantabria). *Guineana* 1: 1–435.
- Janišová, M. (ed.) 2007. *Travinnobylinná vegetácia Slovenska – elektronický expertný systém na identifikáciu syntaxónov*. Botanický ústav SAV, Bratislava, SK.
- Julve, P. 1999. Carte phytogéographique de la France. *Cahiers de Géographie Physique*, n°13. Institut de géographie, Lille, FR. <http://philippe.julve.pagesperso-orange.fr/carte.htm>.
- Kati, V., Zografou, K., Tzirkalli, E., Chitos, T. & Willemse, L. 2012. Butterfly and grasshopper diversity patterns in humid Mediterranean grasslands: the roles of disturbance and environmental factors. *Journal of Insect Conservation* 16. DOI: 10.1007/s10841-012-9467-2.
- Landete-Castillejos, T., Andrés-Abellán, M., Argandoña, J.J. & Garde, J. 2000. Distribution of the Cabrera vole (*Microtus cabreræ*) in its first reported areas reassessed by live trapping. *Biological Conservation* 94: 127–130.
- Lengyel, A., Chytrý, M. & Tichý, L. 2011. Heterogeneity-constrained random resampling of phytosociological databases. *Journal of Vegetation Science* 22: 175–183.
- McGarigal, K., Cusshman, S. & Stafford, S. 2000. *Multivariate statistics for wildlife and ecology research*. New York: Springer-Verlag.
- Molina, J.A. & Moreno, P.S. 2003. Diversity of the helophytic vegetation in Spain. *Acta Botanica Gallica* 150: 167–193.
- Molina, J.A., Casermeiro, M.A. & Moreno, P.S. 2003. Vegetation composition and soil salinity in a Spanish Mediterranean coastal ecosystem. *Phytocoenologia* 33/2, 475–494.
- Moreira, F., Pinto, M.J., Henriques, I. & Marques, T. 2005. Importance of low-intensity farming systems for fauna, flora and habitats protected under the European “Birds” and “Habitats” directives: is agriculture essential for preserving biodiversity in the Mediterranean region? In: Burk, A.R. (ed.) *Trends in biodiversity research*, pp 117–145. Nova Science Publishers, NY, US.
- Muñoz-Reinoso, J.C. 1995. Influencia del agua freática sobre la vegetación de las áreas de descarga sobre arenas en la reserva biológica de Doñana. *Limnetica* 11/2: 9–16.
- Quézel, P. 1998. La végétation des mares transitoires a *Isoetes* en région méditerranéenne, intérêt patrimonial et conservation. *Ecologia Mediterranea* 24/2, 111–117.
- R Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Rey Benayas, J.M. & Scheiner, S.M. 1993. Diversity patterns of wet meadows along geochemical gradients in central Spain. *Journal of Vegetation Science* 4: 103–108.
- Rivas-Martínez, S. 2007. Mapa de series, geoseries y geopermaseries de vegetación de España (Memoria del Mapa de Vegetación Potencial de España, parte I). *Itinera Geobotanica* 17: 5–436.
- Rivas-Martínez, S., Costa, M., Castroviejo, S. & Valdés, E. 1980. Vegetación de Doñana (Huelva, España). *Lazaroa* 2: 5–190.

- Rivas-Martínez, S., Penas, A. & Díaz, T.E. 2004. Biogeographic Map of Europe. Cartographic Service, University of León, León, SP. [www.globalbioclimatics.org]
- Rivas-Martínez, S. et al. 2011. Mapa de series, geoseries y geopermaseries de vegetación de España. *Itinera Geobotanica* 18: 296–298.
- Rodwell, J.S. (ed.) 1992. *British plant communities. Vol. 3. Grasslands and montane communities*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- San Miguel, A. (coord.) 2009. Los pastos de la Comunidad de Madrid. Tipología, Cartografía y Evaluación. *Serie Técnica de Medio Ambiente nº 4*. Comunidad de Madrid, Madrid, Spain.
- Stančić, Z. 2008. Classification of mesic and wet grasslands in northwest Croatia. *Biologia* 63/6: 1089–1103.
- Tchou, Y.-T. 1948. Études écologiques et phytosociologiques sur les forêts riveraines du Bas-Languedoc (*Populetum albae*). *Vegetatio* 1/1: 2–28.
- Tichý, L. & Chytrý, M. 2006. Statistical determination of diagnostic species for site groups of unequal size. *Journal of Vegetation Science* 17: 809–818.
- Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M. & Webb, D.A. 1964-1980. *Flora Europaea*. Vol. I-V. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Tziaila, C.E., Veresoglou, D.S., Papakosta, D. & Mamolos, A.P. 2006. Changes in soil characteristics and plant species composition along a moisture gradient in a Mediterranean pasture. *Journal of Environmental Management* 80: 90–98.
- Van der Maarel, E. 1979. Transformation of cover abundance values in phytosociology and its effects on community similarity. *Vegetatio* 39, 97–114.
- Van Tongeren, O.F.R. 1995. Cluster analysis. In: Jongman, R.H.G., Ter Braak, C.J.F. & Van Tongeren O.F.R. (eds.) *Data analysis in landscape and community ecology*, pp. 174-212. Cambridge University Press, Cambridge & NY, UK-US.
- Wiser, S.K. & De Cáceres, M. 2013. Updating vegetation classifications: An example with New Zealand's woody vegetation. *Journal of Vegetation Science* 24/1, 80–93.

**Table 1.** List of the plant-community types resulting from K-means partitions with their diagnostic species ( $\Phi \geq 0.25$ ; \* indicates  $\Phi \geq 50$ ). Only species with a frequency higher than 20% are included. Each plant-community type is related to the associations or communities assigned by the original author to the relevés. **Med. basin:** Mediterranean basin; **West. Med.:** Western Mediterranean; **IP:** Iberian Peninsula; **Cent. Med.:** Central Mediterranean.

PLANT-COMMUNITY TYPES		Distribution	Diagnostic species
<b>SUB-GROUP 1: <i>Schoenus nigricans</i> communities</b>			<i>Schoenus nigricans</i> *, <i>Ditrichia viscosa</i> *, <i>Sacharum ravennae</i>
Community 1	Rush grasslands of <i>Schoenus nigricans</i> with <i>Ditrichia viscosa</i> , <i>Juncus acutus</i> , and <i>Scirpoides holoschoenus</i> (14 rel.) <i>Holoschoeno vulgaris</i> - <i>Juncetum acuti</i> ; Groupement à <i>Schoenus nigricans</i> ; Aggruppamento a <i>Schoenus nigricans</i> ; Habitat of Italy (EU-IT-018): <i>Molinio-Holoschoenion</i> ; <i>Junco acuti</i> - <i>Schoenetum nigricantis</i> ; <i>Eriantho ravennae</i> - <i>Schoenetum nigricantis</i>	Med. basin	<i>Schoenus nigricans</i> , <i>Ditrichia viscosa</i> , <i>Juncus acutus</i> , <i>Carex extensa</i> , <i>Hydrocotile bonariensis</i> , <i>Centaureum maritimum</i>
Community 2	Rush grasslands of <i>Schoenus nigricans</i> with <i>Ditrichia viscosa</i> , <i>Scirpoides holoschoenus</i> , and <i>Molinia arundinacea</i> (46 rel.) <i>Eriantho ravennae</i> - <i>Holoschoenetum australis</i> ; <i>Hyperico caprifolii</i> - <i>Ericetum erigenae</i> ; <i>Hyperico caprifolii</i> - <i>Schoenetum nigricantis</i> ; <i>Inulo viscosae</i> - <i>Schoenetum nigricantis</i> ; <i>Lysimachio ephemeris</i> - <i>Holoschoenetum vulgaris</i> ; <i>Cirsio tuberosi</i> - <i>Schoenetum nigricantis</i> ; <i>Schoenetum nigricantis</i> ; Groupement à <i>Schoenus nigricans</i> ; <i>Eriantho ravennae</i> - <i>Schoenetum nigricantis</i> ; <i>Imperato cylindrica</i> - <i>Schoenetum nigricantis</i>	West. Med.	<i>Schoenus nigricans</i>
Community 3	Grasslands of <i>Saccharum ravennae</i> with <i>Ditrichia viscosa</i> and <i>Schoenus nigricans</i> (19 rel.) <i>Eriantho ravennae</i> - <i>Holoschoenetum australis</i> ; <i>Imperato cylindrica</i> - <i>Erianthetum ravennae</i> ; <i>Calamagrostio epigejotis</i> - <i>Erianthetum ravennae</i> ; <i>Eriantho ravennae</i> - <i>Schoenetum nigricantis</i> ; Habitat of Italy (EU-IT-018): <i>Molinio-Holoschoenion</i> ; Habitat of Italy (EU-IT-018): Bibliográficos	Med. basin	<i>Saccharum ravennae</i> *, <i>Dorycnium rectum</i> , <i>Ditrichia viscosa</i> , <i>Elymus pycnanthus</i> , <i>Calamagrostis epigejos</i> , <i>Centaureum erythraea</i> , <i>Oenanthera biennis</i>
Community 4	Rush grasslands of <i>Galium viridiflorum</i> , <i>Scirpoides holoschoenus</i> and <i>Schoenus nigricans</i> , (6 rel.) <i>Galio viridiflori</i> - <i>Schoenetum nigricantis</i>	IP	<i>Galium viridiflorum</i> *, <i>Nerium oleander</i> *, <i>Erica terminalis</i> *
<b>SUB-GROUP 2: <i>Juncus acutus</i> and <i>Juncus maritimus</i> rushes</b>			<i>Juncus maritimus</i> , <i>Juncus acutus</i>
Community 5	Rush meadows of <i>Juncus acutus</i> , <i>Juncus maritimus</i> and <i>Scirpoides holoschoenus</i> (23 rel.) <i>Galio palustris</i> - <i>Juncetum maritimi</i> ; <i>Holoschoeno vulgaris</i> - <i>Juncetum acuti</i> ; <i>Juncetum maritimi</i> ; <i>Juncetum acutae</i>	West. Med.	<i>Juncus acutus</i>
Community 6	Canarian rush meadows of <i>Juncus acutus</i> and <i>Scirpoides holoschoenus</i> (9 rel.) <i>Scirpo globiferi</i> - <i>Juncetum acuti</i>	IP	<i>Scirpoides globifera</i> *, <i>Mentha spicata</i> *, <i>Polygonum salicifolium</i> *, <i>Aster squamatus</i> *, <i>Euphorbia regis-jubae</i>
Community 7	Rush meadows of <i>Juncus maritimus</i> with <i>Galium palustre</i> (17 rel.) <i>Dorycnio recti</i> - <i>Juncetum maritimi</i> ; <i>Galio palustris</i> - <i>Juncetum maritimi</i> ; Habitat of Italy (EU-IT-018): <i>Molinio-Holoschoenion</i> ; <i>Juncetum maritimi</i>	West. Med.	<i>Juncus maritimus</i> *, <i>Galium palustre</i>
<b>SUB-GROUP 3: <i>Molinia arundinacea</i> grasslands, <i>Scirpoides holoschoenus</i> rushes and other grasslands</b>			<i>Molinia arundinacea</i> , <i>Potentilla reptans</i> , <i>Holcus lanatus</i> , <i>Carex flacca</i>
Community 8	Grasslands of <i>Molinia arundinacea</i> with <i>Schoenus nigricans</i> and <i>Scirpoides holoschoenus</i> (29 rel.) <i>Centaureo vinyalsii</i> - <i>Succisetum pratensis</i> ; <i>Dorycnio gracilis</i> - <i>Molinietum arundinaceae</i> ; <i>Galio viridiflori</i> - <i>Schoenetum nigricantis</i> ; <i>Hyperico caprifolii</i> - <i>Ericetum erigenae</i> ; <i>Inulo viscosae</i> - <i>Schoenetum nigricantis</i> ; <i>Lysimachio ephemeris</i> - <i>Holoschoenetum vulgaris</i> ; <i>Molinio arundinaceae</i> - <i>Ericetum erigenae</i> ; <i>Peucedano hispanici</i> - <i>Molinietum arundinaceae</i> ; <i>Scirpo holoschoeni</i> - <i>Molinietum caeruleae</i> ; <i>Cirsio tuberosi</i> - <i>Schoenetum nigricantis</i> ; <i>Gentiano pneumonanthe</i> - <i>Cladietum marisci</i>	West. Med.	<i>Molinia arundinacea</i>

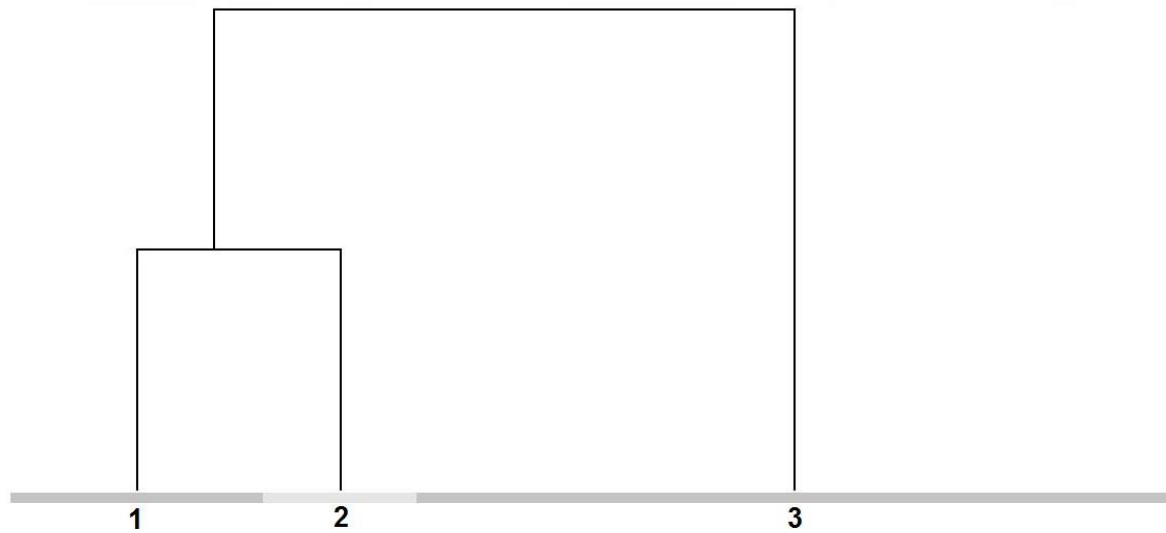
Community 9	Grasslands of <i>Molinia arundinacea</i> with <i>Succisa pratensis</i> and <i>Silaum silaus</i> (11 rel.) <i>Centaureo vinyalsii-Succisetum pratensis</i> ; <i>Galio constricti-Juncetum subnodulosi</i> ; <i>Scirpo holoschoeni-Molinietum caeruleae</i> ; <i>Molinietum mediterraneum</i>	West. Med.	<i>Silaum silaus</i> *, <i>Serratula tinctoria</i> *, <i>Ranunculus acris</i> subsp. <i>friesianus</i> *, <i>Succisa pratensis</i> *, <i>Calystegia sepium</i> *, <i>Carex panicea</i> *, <i>Sanguisorba officinalis</i> *, <i>Tetragonolobus maritimus</i> *, <i>Taraxacum palustre</i> *, <i>Galium verum</i> *, <i>Dactylorhiza majalis</i> *, <i>Linum maritimum</i> *, <i>Lysimachia vulgaris</i> *, <i>Molinia arundinacea</i> , <i>Lythrum salicaria</i> , <i>Carex distans</i> , <i>Genista tinctoria</i> , <i>Ononis spinosa</i> , <i>Carex flacca</i> . <i>Mentha aquatica</i> , <i>Pulicaria dysenterica</i> , <i>Oenanthe lachenalii</i> , <i>Juncus subnodulosus</i> , <i>Trifolium pratense</i> , <i>Daucus carota</i> s.l., <i>Potentilla reptans</i>
Community 10	Grasslands of <i>Molinia arundinacea</i> with <i>Sonchus maritimus</i> subsp. <i>aquatilis</i> , and <i>Hypericum caprifolium</i> (5 rel.) <i>Peucedano hispanici-Molinietum arundinaceae</i>	IP	<i>Hypericum caprifolium</i> *, <i>Brachypodium sylvaticum</i> *, <i>Cirsium rosulatum</i> *, <i>Mentha longifolia</i> , <i>Molinia arundinacea</i> , <i>Peucedanum hispanicum</i> , <i>Sonchus maritimus</i> subsp. <i>aquatilis</i> , <i>Acnatherum calamagrostis</i>
Community 11	Forbs of <i>Ranunculus macrophyllus</i> and <i>Geranium dissectum</i> with <i>Scirpoides holoschoenus</i> (7 rel.) <i>Geranio dissecti-Ranunculetum macrophylli</i>	IP	<i>Ranunculus macrophyllus</i> *, <i>Geranium dissectum</i> *, <i>Medicago murex</i> *, <i>Leucojum aestivum</i> *, <i>Phalaris aquatica</i> *, <i>Vulpiella tenuis</i> *, <i>Poa trivialis</i> s.l., <i>Mentha suaveolens</i>
Community 12	Forbs of <i>Peucedanum hispanicum</i> with <i>Cirsium pyrenaicum</i> var. <i>longespinosum</i> and <i>Mentha suaveolens</i> (7 rel.) <i>Cirsio longespinosi-Holoschoenetum vulgaris</i> ; <i>Peucedano hispanici-Molinietum arundinaceae</i> ; <i>Peucedano hispanici-Senecionetum laderoi</i> ; <i>Peucedano hispanici-Sonchetum aquatilis</i>	IP	<i>Peucedanum hispanicum</i> *, <i>Ranunculus granatensis</i>
Community 13	Forbs of <i>Imperata cylindrical</i> and <i>Scirpoides holoschoenus</i> (6 rel.) <i>Imperato cylindricae-Scirpetum holoschoeni</i> ; <i>Holoschoenetum romani</i> ; <i>Imperato cylindricae-Erianthetum ravennae</i> ; Cilento National Park-Lucanian Vegetation Database (EU-IT-003/003)	West. Med.	<i>Trifolium campestre</i> *, <i>Artemisia campestris</i> *, <i>Arenaria serpyllifolia</i> *, <i>Centaurea aspera</i> *, <i>Medicago minima</i> *, <i>Crepis capillaris</i> *, <i>Imperata cylindrica</i> *
Community 14	Grasslands of <i>Festuca arundinacea</i> subsp. <i>mediterranea</i> (3 rel.) <i>Poo sylvicolae-Festucetum atlantigenae</i>	IP	<i>Festuca arundinacea</i> subsp. <i>mediterranea</i> *, <i>Cynara humilis</i> *, <i>Scolymus hispanicus</i> *, <i>Centaurea calcitrapa</i> *, <i>Ammi visnaga</i> *, <i>Plantago lagopus</i> *, <i>Juncus acutus</i>
Community 15	Rush meadows of <i>Scirpoides holoschoenus</i> with <i>Equisetum ramossissimum</i> and <i>Juncus articulatus</i> (7 rel.) Habitat of Italy (EU-IT-018): <i>Holoschoeno-Caricetum distans</i>	Cent. Med.	<i>Hypericum humifusum</i> *, <i>Polypogon viridis</i> *, <i>Gnaphalium luteo-album</i> *, <i>Philonotis fontana</i> *, <i>Juncus articulatus</i> *, <i>Equisetum ramosissimum</i> *, <i>Lolium rigidum</i> , <i>Plantago major</i> , <i>Blackstonia perfoliata</i> , <i>Carex distans</i>
Community 16	Rush meadows of <i>Scirpoides holoschoenus</i> with <i>Cirsium pyrenaicum</i> var. <i>longespinosum</i> and <i>Senecio doria</i> subsp. <i>laderoi</i> (7 rel.) <i>Lysimachio ephemerii-Holoschoenetum vulgaris</i>	IP	<i>Senecio doria</i> subsp. <i>laderoi</i> *, <i>Centaurea jacea</i> s.l.*, <i>Cirsium pyrenaicum</i> s.l., <i>Lathyrus pratensis</i> , <i>Briza media</i>
Community 17	Rush meadows of <i>Scirpoides holoschoenus</i> and <i>Lysimachia ephemerum</i> (18 rel.) <i>Lysimachio ephemerii-Holoschoenetum vulgaris</i> ; <i>Scirpoidetum holoschoeni</i>	IP	<i>Lysimachia ephemerum</i> *, <i>Carex mairei</i> , <i>Juncus inflexus</i> , <i>Lythrum salicaria</i>



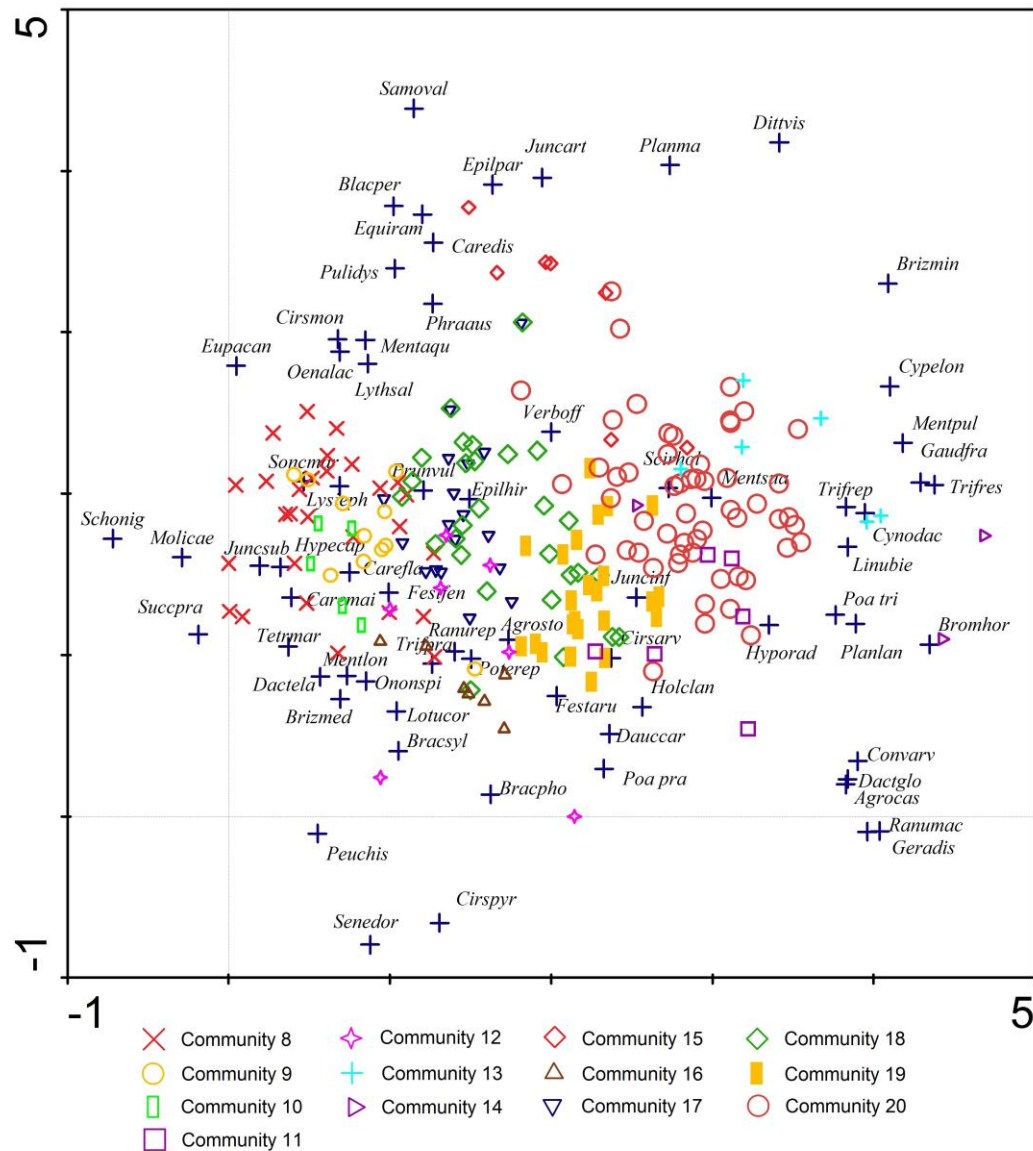
Community 18	<p><b>Rush meadows of <i>Scirpoides holoschoenus</i> with <i>Cirsium monspessulanum</i> subsp. <i>ferox</i> and <i>Carex flacca</i> (28 rel.)</b></p> <p><i>Cirsio monspessulani-Holoschoenetum vulgaris</i>; <i>Geranio dissecti-Ranunculetum macrophylli</i>; <i>Lysimachio ephemeris-Holoschoenetum vulgaris</i>; <i>Mentha longifoliae-Caricetum loscosii</i>; <i>Scirpoidetum holoschoeni</i>; <i>Trifolium resupinati-Holoschoenetum vulgaris</i>; Habitat of Italy (EU-IT-018): <i>Molinio-Holoschoenion</i></p>	West. Med.	<i>Cirsium monspessulanum</i> s.l., <i>Poa pratensis</i> , <i>Galium aparine</i> , <i>Cirsium arvense</i> ,
Community 19	<p><b>Rush meadows of <i>Scirpoides holoschoenus</i> with <i>Mentha suaveolens</i> (25 rel.)</b></p> <p><i>Cirsio longespinosi-Holoschoenetum vulgaris</i>; <i>Cirsio micranthi-Scirpoidetum holoschoeni</i>; <i>Cirsio monspessulani-Holoschoenetum vulgaris</i>; <i>Geranio dissecti-Ranunculetum macrophylli</i>; <i>Holoschoeno vulgaris-Juncetum acuti</i>; <i>Lysimachio ephemeris-Holoschoenetum vulgaris</i>; <i>Scirpo holoschoeni-Cirsietum longespinosi</i>; <i>Trifolium resupinati-Holoschoenetum vulgaris</i>; Habitat of Italy (EU-IT-018): <i>Molinio-Holoschoenion</i></p>	West. Med.	<i>Mentha suaveolens</i> , <i>Holcus lanatus</i> , <i>Juncus inflexus</i> , <i>Lotus pedunculatus</i>
Community 20	<p><b>Rush meadows of <i>Scirpoides holoschoenus</i> with <i>Holcus lanatus</i> (59 rel.)</b></p> <p><i>Bellardio trixaginis-Holoschoenetum australis</i>; <i>Cirsio longespinosi-Holoschoenetum vulgaris</i>; <i>Cirsio monspessulani-Holoschoenetum vulgaris</i>; <i>Eriantho ravennae-Holoschoenetum australis</i>; <i>Geranio dissecti-Ranunculetum macrophylli</i>; <i>Holoschoeno vulgaris-Juncetum acuti</i>; <i>Lysimachio ephemeris-Holoschoenetum vulgaris</i>; <i>Melico magnolii-Holoschoenetum vulgaris</i> subas. <i>silicium</i>; <i>Trifolium resupinati-Holoschoenetum vulgaris</i>; <i>Holoschoenetum romani</i>; Cilento National Park-Lucanian Vegetation Database (EU-IT-003/003); Habitat of Italy (EU-IT-018): <i>Molinio-Holoschoenion</i>; Croatia: Grasslands</p>	Med. basin	<i>Trifolium resupinatum</i>

---

**Figure 1.** Dendrogram obtained through beta-flexible clustering. The number of the clusters corresponds to the three Sub-groups: **1:** *Schoenus nigricans* communities; **2:** *Juncus acutus* and *Juncus maritimus* rushes; **3:** *Molinia arundinacea* grasslands, *Scirpoides holoschoenus* rushes and other grasslands.



**Figure 2.** Detrended correspondence analysis of Sub-group 3, with centroids of particular clusters. Numbers correspond to those of the plant-communities (Table 1): **8:** Grasslands of *Molinia arundinacea* with *Schoenus nigricans* and *Scirpoides holoschoenus*, **9:** Grasslands of *Molinia arundinacea* with *Succisa pratensis* and *Silene silaus*, **10:** Grasslands of *Molinia arundinacea* with *Sonchus maritimus* subsp. *aquaticus*, and *Hypericum caprifolium*, **11:** Forbs of *Ranunculus macrophyllus* and *Geranium dissectum* with *Scirpoides holoschoenus*, **12:** Forbs of *Peucedanum hispanicum* with *Cirsium pyrenaicum* var. *longespinosum* and *Mentha suaveolens*, **13:** Forbs of *Imperata cylindrical* and *Scirpoides holoschoenus*, **14:** Grasslands of *Festuca arundinacea* subsp. *mediterranea*, **15:** Rush meadows of *Scirpoides holoschoenus* with *Equisetum ramossissimum* and *Juncus articulatus*, **16:** Rush meadows of *Scirpoides holoschoenus* with *Cirsium pyrenaicum* var. *pyrenaicum* and *Senecio doria* subsp. *laderoi*, **17:** Rush meadows of *Scirpoides holoschoenus* and *Lysimachia ephemerum*, **18:** Rush meadows of *Scirpoides holoschoenus* with *Cirsium monspessulanum* subsp. *ferox* and *Carex flacca*, **19:** Rush meadows of *Scirpoides holoschoenus* with *Mentha suaveolens*, and **20:** Rush meadows of *Scirpoides holoschoenus* with *Holcus lanatus*. Only species with a weight of more than 5% are shown.



Supporting information to the paper

García-Madrid, A.S. et al. Diversity and classification of Mediterranean tall humid herb grasslands (*Molinio-Holoschoenion*) in Europe. Applied Vegetation Science.

**Appendix S1.** List of Databases included in this study. **GVID ID Code:** Identification code of the Databases in Global Index of Vegetation-Plot Databases (GIVD, Dengler et al. 2011); **N. rel.:** Number of relevés taken from the database.

Database	GVID ID Code	N. rel.
Iberian and Macaronesian Vegetation Information System (SIVIM)	EU-00-004	894
Vegetation Database Habitat of Italy	EU-IT-018	103
Phytosociological Database of Non-Forest Vegetation in Croatia	EU-HR-001	17
VegDunes Database	EU-IT-005	10
Vegetation Database of the Cilento National Park	EU-IT-002	6

**Appendix S2.** List of species merged into broadly defined taxa (s.l.) or aggregates (agg.) in the *Molinio-Holoschoenion* data set.

*Anthemis arvensis* s.l.: *A. arvensis*, *A. incrassata*, *A. sphacelata*  
*Arrhenatherum elatius* s.l.: *A. bulbosum*, *A. elatius*  
*Arum italicum* s.l.: *A. italicum*, *A. neglectum*  
*Avena sterilis* s.l.: *A. ludoviciana*, *A. sterilis*  
*Blackstonia perfoliata* s.l.: *B. grandiflora*, *B. imperfoliata*, *B. perfoliata*  
*Carex flacca* s.l.: *C. flacca*, *C. erythrostachys*  
*Centaurea jacea* s.l.: *C. angustifolia*, *C. jacea*, *C. dracunculifolia*  
*Centaureum erythraea* s.l.: *C. enclausense*, *C. erythraea*, *C. grandiflorum*, *C. limoniiforme*, *C. rumelicum*  
*Chaetopogon fasciculatus* s.l.: *C. fasciculatus*, *C. prostratus*  
*Cirsium creticum* s.l.: *C. creticum*, *C. triumfetti*  
*Cirsium monspessulanum* s.l.: *C. ferox*, *C. monspessulanum*  
*Cirsium pyrenaicum* s.l.: *C. longespinosum*, *C. micranthum*, *C. pyrenaicum*  
*Cyperus longus* s.l.: *C. badius*, *C. longus*  
*Dactylis glomerata* s.l.: *D. glomerata*, *D. hispanica*, *D. ibizensis*  
*Dactylorhiza elata* s.l.: *D. elata*, *D. sesquipedalis*  
*Dactylorhiza majalis* s.l.: *D. majalis*, *D. praetermissa*  
*Daucus carota* s.l.: *D. carota*, *D. commutatus*, *D. gummifer*, *D. maritimus*, *D. maximus*  
*Dittrichia viscosa* s.l.: *D. revoluta*, *D. viscosa*  
*Elymus hispidus* s.l.: *E. barbulatus*, *E. hispidus*, *E. pouzolzii*  
*Elymus pungens* s.l.: *E. campestris*, *E. fontqueri*, *E. pungens*  
*Foeniculum vulgare* s.l.: *F. piperitum*, *F. vulgare*  
*Hordeum murinum* s.l.: *H. glaucum*, *H. leporinum*, *H. murinum*  
*Juncus acutus* s.l.: *J. acutus*, *J. leopoldi*  
*Juncus gerardi* s.l.: *J. gerardi*, *J. montanus*  
*Leontodon taraxacoides* s.l.: *L. longirostris*, *L. taraxacoides*  
*Leucanthemum vulgare* agg.: *L. laciniatum*, *L. lacustre*, *L. pallens*  
*Leucojum aestivum* s.l.: *L. aestivum*, *L. pulchellum*  
*Lotus pedunculatus* s.l.: *L. granadensis*, *L. pedunculatus*  
*Myosotis ramosissima* s.l.: *M. globularis*, *M. ramosissima*  
*Ononis spinosa* s.l.: *O. australis*, *O. antiquorum*, *O. spinosa*  
*Origanum vulgare* s.l.: *O. virens*, *O. vulgare*  
*Phleum pratense* s.l.: *P. bertolonii*, *P. pratense*  
*Phragmites australis* s.l.: *P. altissimus*, *P. australis*  
*Picris hieracioides* s.l.: *P. grandiflora*, *P. hieracioides*, *P. spinulosa*  
*Plantago coronopus* s.l.: *P. coronopus*, *P. cupanii*, *P. purpurascens*  
*Plantago major* s.l.: *P. intermedia*, *P. major*  
*Ranunculus bulbosus* s.l.: *R. aleae*, *R. bulbosus*  
*Rumex pulcher* s.l.: *R. pulcher*, *R. woodsii*  
*Salix purpurea* s.l.: *S. lambertiana*, *S. purpurea*  
*Salix triandra* s.l.: *S. discolor*, *S. triandra*  
*Sanguisorba minor* s.l.: *S. magnolii*, *S. minor*, *S. muricata*, *S. rupicola*  
*Scirpoides holoschoenus* s.l.: *S. australis*, *S. holoschoenus*, *S. romana*  
*Silene vulgaris* s.l.: *S. angustifolia*, *S. commutata*, *S. macrocarpa*, *S. vulgaris*  
*Sonchus asper* s.l.: *S. asper*, *S. glaucescens*  
*Sonchus maritimus* s.l.: *S. aquatilis*, *S. maritimus*  
*Taraxacum officinale* agg.: *T. pannulatum*, *T. piceatum*, *T. polyodo*, *T. rhodopodum*, *T. sellandii*, *T. subcyanolepis*  
*Teucrium scordium* s.l.: *T. scordioides*, *T. scordium*  
*Torilis arvensis* s.l.: *T. arvensis*, *T. elongata*, *T. neglecta*, *T. purpurea*

*Trifolium fragiferum* s.l.: *T. bonannii*, *T. pulchellum*

*Vicia sativa* s.l.: *V. amphicarpa*, *V. cordata*, *V. nigra*, *V. sativa*

*Xanthium strumarium* s.l.: *X. italicum*, *X. strumarium*

García-Madrid, A.S. et al. Diversity and classification of Mediterranean tall humid herb grasslands (*Molinio-Holoschoenion*) in Europe. Applied Vegetation Science.

**Appendix S3.** Characteristic species of *Molinio-Holoschoenion*, *Holoschoenetalia* and *Molinio-Arrhenatheretea* according to Braun-Blanquet et al. (1952), Rivas-Martínez et al. (2011) and EC (2013).

***Molinio-Holoschoenion*:**

<i>Agrostis reuteri</i>	Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Agrostis stolonifera</i>	EC (2013)
<i>Aster novi-belgii</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Asteriscus aquaticus</i>	EC (2013)
<i>Briza minor</i>	EC (2013)
<i>Carex mairei</i>	Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Carex panicea</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Centaurea vinyalsii</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Cirsium monspessulanum</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Cirsium pyrenaicum</i>	Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Cochlearia glastifolia</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Cyperus longus</i>	EC (2013)
<i>Dactylorhiza elata</i>	EC (2013)
<i>Dactylorhiza majalis</i> subsp. <i>praetermissa</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Danthonia decumbens</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Dittrichia viscosa</i>	EC (2013)
<i>Dorycnium rectum</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Erica erigena</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Erica mackaiana</i> subsp. <i>andevalensis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Erica terminalis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Eupatorium cannabinum</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), EC (2013)
<i>Euphorbia pubescens</i>	Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Festuca fenas</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Galium debile</i>	Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Galium viridiflorum</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Genista tinctoria</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), EC (2013)
<i>Hypericum hircinum</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Hypericum tetrapterum</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), EC (2013)
<i>Hypericum tomentosum</i>	Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Juncus acutus</i>	EC (2013)
<i>Juncus maritimus</i>	EC (2013)
<i>Juncus subnodulosus</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Lathyrus palustris</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), EC (2013)
<i>Linum tenue</i>	Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Lysimachia ephemerum</i>	Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Melica cupanii</i>	EC (2013)
<i>Molinia arundinacea</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Oenanthe lachenalii</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), EC (2013)
<i>Oenanthe pimpinelloides</i>	EC (2013)



<i>Ophioglossum vulgatum</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Peucedanum hispanicum</i>	Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Prunella vulgaris</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), EC (2013)
<i>Pulicaria dysenterica</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), EC (2013)
<i>Ranunculus granatensis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Ranunculus bulbosus</i> subsp. <i>aleae</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Ranunculus macrophyllus</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Sanguisorba officinalis</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), EC (2013)
<i>Schoenus nigricans</i>	EC (2013)
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), EC (2013)
<i>Scrophularia auriculata</i> subsp. <i>valentina</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Senecio doria</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Serapias vomeracea</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Serratula tinctoria</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), EC (2013)
<i>Silaum silaus</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), EC (2013)
<i>Sonchus maritimus</i> subsp. <i>aquatilis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Succisa pratensis</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), EC (2013)
<i>Succisella andreae-molinae</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Tetragonolobus maritimus</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), Rivas-Martínez et al. (2011), EC (2013)
<i>Thalictrum flavum</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Trifolium resupinatum</i>	EC (2013)
<b><i>Holoschoenetalia:</i></b>	
<i>Agrostis stolonifera</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Alopecurus arundinaceus</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Blackstonia perfoliata</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Centaurea jacea</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Centaureum pulchellum</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Cichorium endivia</i> subsp. <i>divaricatum</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Cirsium pyrenaicum</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Cyperus eragrostis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Deschampsia media</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Dittrichia viscosa</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Festuca arundinacea</i> subsp. <i>mediterranea</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Hypericum caprifolium</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Hypericum pubescens</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Hypericum tomentosum</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Juncus striatus</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Leontodon hirtus</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Lotus corniculatus</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Melilotus indica</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Oenanthe pimpinelloides</i>	Braun-Blanquet et al. (1952), Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Phalaris aquatica</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Plantago maritima</i> subsp. <i>serpentina</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Potentilla reptans</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Prunella hyssopifolia</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)

<i>Pulicaria dysenterica</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Seseli elatum</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)

***Molinio-Arrhenatheretea:***

<i>Agrostis capillaris</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Agrostis x murbeckii</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Alopecurus pratensis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Arrhenatherum elatius</i> subsp. <i>bulbosum</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Cardamine pratensis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Carex distans</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Carex flacca</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Centaurea jacea</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Cerastium fontanum</i> subsp. <i>hispanicum</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Crepis capillaris</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Dactylis glomerata</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Dactylorhiza elata</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Dactylorhiza sambucina</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Euphrasia rostkoviana</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Festuca pratensis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Holcus lanatus</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Hypericum tetrapterum</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Juncus articulatus</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Juncus inflexus</i>	Braun-Blanquet et al. (1952)
<i>Knautia arvensis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Lathyrus pratensis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Linum bienne</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Lotus corniculatus</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Oenanthe lachenalii</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Orchis coriophora</i> subsp. <i>coriophora</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Orchis coriophora</i> subsp. <i>martrinii</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Orchis laxiflora</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Phleum pratense</i> subsp. <i>bertolonii</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Plantago lanceolata</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Poa pratensis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Poa trivialis</i> subsp. <i>trivialis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Prunella vulgaris</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Ranunculus acris</i> subsp. <i>friesianus</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Rhinanthus minor</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Rumex acetosa</i> subsp. <i>acetosa</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Sanguisorba officinalis</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Schoenus nigricans</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Senecio helenitis</i> subsp. <i>macrochaetus</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Senecio jacobaea</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)
<i>Trifolium pratense</i>	Rivas-Martínez et al. (2011)

**Appendix S4.** List of plant communities recognized in this study as European *Molinio-Holoschoenion* under Mediterranean climate, and considered here as hypothetical groups. Countries denote the main distribution of the plant communities.

Aggruppamento a <i>Schoenus nigricans</i> Taffetani & Zitti 2011	Italy
<i>Bellardio trixaginis-Holoschoenetum australis</i> O. Bolòs 1962	Spain
<i>Calamagrostio epigejotis-Erianthetum ravennae</i> Taffetani & Biondi 1989	Italy
<i>Carex divisa</i> and <i>Oenanthe pimpinelloides</i> community Gradstein & Smittenberg 1977	Greece (Crete)
<i>Caricetum creticae</i> Gradstein & Smittenberg 1977	Greece (Crete)
<i>Caricetum divisa</i> Br.-Bl. 1931	Italy, Spain
<i>Centaureo vinyalsii-Succisetum pratensis</i> O. Bolòs 1954	Spain
<i>Cirsio longespinosi-Holoschoenetum vulgaris</i> C. Valle & A. Gutiérrez 1991	Spain
<i>Cirsio micranthi-Scirpoidetum holoschoeni</i> Lorite, Salazar, Cano & Valle in Salazar, Lorite, A. García, J. Torres, Cano & Valle 2001	Spain
<i>Cirsio monspessulani-Holoschoenetum vulgaris</i> Br.-Bl. ex Tchou 1948	France, Spain
<i>Cirsio tuberosi-Schoenetum nigricantis</i> Navarro inéd.	Spain
<i>Dorycnio gracilis-Molinietum arundinaceae</i> Estesó 1992	Spain
<i>Dorycnio recti-Juncetum maritimi</i> Roselló 1994	Spain
<i>Eriantho ravennae-Holoschoenetum australis</i> O. Bolòs 1962	Spain
<i>Eriantho ravennae-Schoenetum nigricantis</i> (Pignatti 1953) Géhu 1984	France, Greece, Italy
<i>Galio constricti-Juncetum subnodulosi</i> Br.-Bl. in Br.-Bl., Roussine & Nègre 1952	France, Spain
<i>Galio palustris-Juncetum maritimi</i> Rivas-Martínez & Costa in Rivas-Martínez, Costa, Castroviejo & E. Valdés 1980	Portugal, Spain
<i>Galio viridiflori-Schoenetum nigricantis</i> Rivas Goday & Esteve 1972	Spain
<i>Gentiano pneumonanthe-Cladietum marisci</i> Molinier & Tallon 1950	France
<i>Geranio dissecti-Ranunculetum macrophylli</i> O. Bolòs & Molinier 1958	Spain
Groupement à <i>Schoenus nigricans</i> Paradis & Pozo di Borgo 2005	France (Corsica)
<i>Holoschoenetum romani</i> (Br.-Bl. 1931) 1951	France, Italy (Sardinia)
<i>Holoschoeno vulgaris-Juncetum acuti</i> Rivas-Martínez & Costa in Rivas-Martínez, Costa, Castroviejo & E. Valdés 1980	Portugal, Spain
<i>Hyperico caprifolii-Ericetum erigenae</i> Salazar, A. García, F. Valle & Rivas-Martínez 2011	Spain
<i>Hyperico caprifolii-Schoenetum nigricantis</i> Gómez-Mercado & F. Valle 1992	Spain
<i>Imperato cylindrica-Erianthetum ravennae</i> Molinier & Tallon 1965	France
<i>Imperato cylindrica-Schoenetum nigricantis</i> Arrigoni 1996	Italy (Sardinia)
<i>Imperato cylindrica-Scirpetum holoschoeni</i> Perez Latorre & Cabezudo 2003	Spain
<i>Inulo viscosae-Schoenetum nigricantis</i> Br.-Bl. 1924	Spain
<i>Juncetum acutae</i> Molinier & Tallon 1970	Italy (Sardinia)
<i>Juncetum maritimi</i> (Rubel 1930) Pignatti 1953	France, Italy (Sardinia)

<i>Junco acuti-Schoenetum nigricantis</i> Géhu, Biondi, Géhu-Franck et Taffetani 1987	Italy (Sardinia)
<i>Lysimachio ephemerii-Holoschoenetum vulgaris</i> Rivas Goday & Borja 1961	Spain
<i>Melico magnolii-Holoschoenetum vulgaris</i> subas. <i>calcareum</i> Rivas Goday 1964	Spain
<i>Melico magnolii-Holoschoenetum vulgaris</i> subas. <i>silicineum</i> Rivas Goday 1964	Spain
<i>Mentho longifoliae-Caricetum loscosii</i> O. Bolòs (1957) 1967	Spain
<i>Molinietum mediterraneum</i> Br.-Bl. 1931	France
<i>Molinio arundinaceae-Ericetum erigenae</i> Costa, Peris & Figuerola 1983	Spain
<i>Molinio arundinaceae-Schoenetum nigricantis</i> Rivas Goday 1945	Spain
<i>Nerio oleandri-Holoschoenetum vulgaris</i> Martínez Parras 1978	Spain
<i>Peucedano hispanici-Molinietum arundinaceae</i> Gómez-Mercado & F. Valle 1992	Spain
<i>Peucedano hispanici-Senecionetum laderoii</i> A.V. Pérez & Cabezudo ex Rivas-Martínez 2011	Spain
<i>Peucedano hispanici-Sonchetum aquatilis</i> O. Bolòs 1957	Spain
Phytosociological Database of Non-forest Vegetation in Croatia: Grasslands (EU-HR-001)	Croatia (Database)
<i>Poo sylvicolae-Festucetum atlantigenae</i> Galán, Deil, Haug & Vicente 1997	Spain
<i>Schoenetum nigricantis</i> Allorge 1922	France, Spain
<i>Scirpo globiferi-Juncetum acuti</i> Rivas-Martínez, Wildpret, Del Arco, O. Rodríguez, Pérez de Paz, García Gallo, Acebes, T.E. Díaz & Fernández-González 1993	Spain
<i>Scirpo holoschoeni-Cirsietum longespinosi</i> Esteso 1992	Spain
<i>Scirpo holoschoeni-Molinietum caeruleae</i> (Br.-Bl. ex Zitti 1938) García-Mijangos 1997	Spain
<i>Scirpoidetum holoschoeni</i> (Br.-Bl. ex Tchou 1948) J. Gómez 2008 inéd.	Spain
<i>Trifolio resupinati-Holoschoenetum vulgaris</i> Rivas Goday 1964	Portugal, Spain
<i>Trifolium resupinatum</i> et <i>Scirpoides holoschoenus</i> subas. <i>Juncus maritimus</i> - <i>Oenanthe lachenalii</i> Rivas Goday 1964	Spain
Vegetation Database Habitat of Italy (EU-IT-018): <i>Holoschoeno-Caricetum distansi</i>	Italy (Database)
Vegetation Database Habitat of Italy (EU-IT-018): Literature	Italy (Database)
Vegetation Database Habitat of Italy (EU-IT-018): <i>Molinio-Holoschoenion</i>	Italy (Database)
Vegetation Database of the Cilento National Park (EU-IT-003)	Italy (Database)

**Appendix S5.** Summary table of the comparative analysis of Rand Index values corresponding to K-means partitions from 25 to 70 groups and the hypothesis of 54 groups (H). Only comparisons among groups from 25 to 45 and the hypothesis (H) are shown. The highest value of the comparison is highlighted with dark background shading.

	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
25	1,00																				
26	0,65	1,00																			
27	0,48	0,46	1,00																		
28	0,58	0,55	0,51	1,00																	
29	0,58	0,53	0,55	0,58	1,00																
30	0,62	0,52	0,55	0,59	0,60	1,00															
31	0,50	0,51	0,44	0,48	0,49	0,50	1,00														
32	0,60	0,54	0,49	0,60	0,52	0,62	0,51	1,00													
33	0,52	0,48	0,49	0,53	0,51	0,51	0,48	0,52	1,00												
34	0,46	0,53	0,41	0,49	0,47	0,46	0,54	0,49	0,52	1,00											
35	0,60	0,54	0,57	0,57	0,53	0,55	0,52	0,55	0,51	0,49	1,00										
36	0,53	0,45	0,53	0,53	0,56	0,60	0,51	0,51	0,53	0,40	0,51	1,00									
37	0,47	0,47	0,46	0,52	0,54	0,50	0,48	0,50	0,42	0,45	0,55	0,55	1,00								
38	0,55	0,55	0,53	0,50	0,53	0,51	0,55	0,55	0,49	0,44	0,58	0,52	0,51	1,00							
39	0,56	0,49	0,47	0,54	0,48	0,53	0,51	0,56	0,52	0,49	0,58	0,45	0,47	0,54	1,00						
40	0,49	0,44	0,42	0,47	0,43	0,48	0,39	0,52	0,49	0,43	0,47	0,38	0,40	0,40	0,47	1,00					
41	0,54	0,53	0,47	0,49	0,50	0,49	0,53	0,51	0,48	0,51	0,48	0,47	0,48	0,53	0,50	0,44	1,00				
42	0,48	0,44	0,46	0,49	0,46	0,49	0,48	0,51	0,48	0,42	0,55	0,49	0,50	0,63	0,53	0,42	0,47	1,00			
43	0,45	0,44	0,44	0,43	0,42	0,42	0,42	0,45	0,50	0,48	0,50	0,41	0,45	0,47	0,50	0,46	0,41	0,41	1,00		
44	0,59	0,53	0,46	0,53	0,49	0,56	0,49	0,56	0,48	0,46	0,57	0,49	0,54	0,55	0,51	0,44	0,54	0,53	0,44	1,00	
45	0,48	0,46	0,50	0,49	0,49	0,53	0,46	0,50	0,48	0,45	0,55	0,53	0,54	0,53	0,50	0,47	0,46	0,45	0,49	0,45	1,00
H	0,23	0,24	0,30	0,21	0,23	0,27	0,24	0,25	0,26	0,28	0,24	0,26	0,23	0,23	0,21	0,26	0,23	0,22	0,25	0,23	0,22







## CAPÍTULO 4

## CHAPTER 4





Fotografía: Sierra Nevada (Granada).

Ana I. Sánchez García-Madrid

# **Towards resolving phylogenetic relationships in the *Ficinia* clade and description of the new genus *Afroscirpoides* (Cypereae, Cyperaceae)**

Ana S. García-Madrid <sup>1</sup>, A. Muthama Muasya <sup>2</sup>, Inés Álvarez <sup>3</sup>, Paloma Cantó <sup>1</sup> & José Antonio Molina <sup>1</sup>

1.- Departamento de Biología Vegetal II, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040-Madrid, Spain

2.- Biological Sciences Department, University of Cape Town, Rondebosch 7701, Cape Town, South Africa

3.- Real Jardín Botánico-CSIC, Plaza de Murillo 2, 28014-Madrid, Spain

Author for correspondence: José A. Molina, [jmabril@ucm.es](mailto:jmabril@ucm.es)

**Abstract** Cyperaceae are the third largest family of monocotyledons and one of the 10 largest families of angiosperms. The family includes two subfamilies and several tribes, one of which, Cypereae, is the aim of the present study. Recent studies recognize the *Ficinia* clade, composed of six genera (*Ficinia*, *Isolepis*, *Scirpoides*, *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus* and *Hellmuthia*), as more closely related to *Cyperus* (Cypereae) than to *Scirpus* (Scirpeae), where it was traditionally placed. In this study, phylogenetic analyses of the *Ficinia* clade have been carried out, based on sequences of two nrDNA loci (ITS and ETS1f) and three plastid loci (*trnL* intron, *rps16* and *trnH-psbA*) and with special attention to the smaller genera of the clade (i.e., *Scirpoides*, *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus*, and *Hellmuthia*). Results revealed a strong geographic pattern within *Scirpoides*, in which two groups are identified, one including the southern African and the other representing the northern hemisphere species. *Dracoscirpoides* and *Erioscirpus* are monophyletic genera while *Hellmuthia* formed a clade with *Ficinia* and *Isolepis*. One species of *Scirpoides* (*S. dioeca*) was outside the clade of *Scirpoides s.str.* in the analyses, and is here transferred to a new monospecific genus endemic to southern Africa: *Afroscirpoides*.

**Key words** *Afroscirpoides*; Cyperaceae; *Ficinia* clade; Mediterranean basin; phylogeny; South Africa.

**Running title** *Ficinia* clade phylogeny & new genus *Afroscirpoides*.

## INTRODUCTION

Cyperaceae are a cosmopolitan graminoid family comprising about 90 genera and over 5,500 species (Goetghebeur, 1998; WCSP, 2014). They occur in a variety of biomes ranging from tundra to tropical rainforest, and are frequently dominant in wetland ecosystems (Simpson, 1995). Cyperaceae include a number of species used for different purposes and that play a vital part in many economies at regional or local level (Simpson & Inglis, 2001). This monocotyledonous family is characterized by an extreme reduction in flower morphology, with unisexual or hermaphrodite flowers arranged in condensed inflorescences, and culms produced in tufts or separated by stolons or rhizomes (Nees, 1835; Goetghebeur, 1998).

In Cyperaceae, classification based mainly on morphological data may be misleading due to the reduced flower characters, which has led to different interpretations and uncertain homologies (Muasya & al., 1998). The most recent of these classifications (Bruhl, 1995; Goetghebeur, 1998) differ in suprageneric groupings into subfamilies and tribes; whereas Bruhl (1995) recognized two subfamilies and 12 tribes, Goetghebeur (1998) recognized four subfamilies and 17 tribes. Phylogenetic analyses at the family level (Muasya & al., 1998, 2009a; Simpson & al., 2007; Jung & Choi, 2013) divided Cyperaceae into two subfamilies: Mapanioideae, characterized by inflorescences consisting of a basic reproductive unit with two prophyll-like structures and subtended by a bract (Prychid & Bruhl, 2013), and Cyperoideae, characterized by inflorescences with at least one (sometimes all) bisexual flowers. These molecular studies identified several monophyletic groups that correspond to previously recognized tribes, especially those of Goetghebeur (1998), whose tribal circumscription is broadly accepted by most authors (i.e., Simpson et al., 2007; Yano et al., 2012; Larridon et al., 2013), with some modifications. A number of tribes have been recognized in subfamily Cyperoideae (e.g., Abildgaardieae, Cypereae, Dulicheae, Eleocharideae, Fuireneae, Rhynchosporeae, Schoeneae, Scirpeae), but tribal delimitation is still not completely resolved (Simpson & al., 2007).

Tribe Cypereae, one of the largest groups of Cyperoideae, is composed of two clades: the *Cyperus* clade, characterized by predominantly distichous glume arrangement and Kranz anatomy absent ( $C_3$ ) or present ( $C_4$ ), and the *Ficinia* clade, characterized by predominantly spiral glume arrangement and non-Kranz ( $C_3$ ) anatomy (Muasya & al., 2009b). The tribe has been represented in molecular phylogenetic analysis based on plastid DNA data (e.g., *rbcL* and *trnL-F*) at the family level (Muasya & al., 1998, 2009a; Simpson & al., 2007), and the *Cyperus* clade has also been well represented in evolutionary studies using both plastid and nuclear DNA

70 markers (Muasya & al., 2001a, 2002; Larridon & al., 2011, 2013; Bauters & al., 2014; Reid &  
71 al., 2014). However, there exist no phylogenetic analyses of the entire *Ficinia* clade, and only  
72 studies focused on a few genera have been conducted until now (Muasya & al., 2001b; Yano &  
73 al., 2012).

74 According to previous analyses, the *Ficinia* clade comprises four genera, namely  
75 *Ficinia* Schrad., *Isolepis* R.Br., *Scirpoides* Ség., and *Hellmuthia* Steud. (Muasya & al., 2009b).  
76 Recently, the South African *Dracoscirpoides* Muasya and the Himalayan *Erioscirpus* Palla have  
77 also been included in this clade (Muasya & al., 2012a; Yano & al., 2012). All *Ficinia* clade  
78 genera share ficinioid morphology (i.e., predominantly tufted perennial herbs, inflorescence  
79 pseudolateral, lowermost primary bract erect and stem-like, flowers bisexual), and a *Cyperus*-  
80 type or *Ficinia*-type embryo (Van der Veken, 1965; Muasya & al., 2009b). The *Ficinia* clade  
81 has its centre of diversity in the Mediterranean Cape Floristic Region of South Africa where  
82 over 70% of the species occur (Goetghebeur, 1998; Muasya & Simpson, 2002; Archer &  
83 Muasya, 2012), including two genera endemic to South Africa, *Dracoscirpoides* and  
84 *Hellmuthia*. Most of the species of the three other genera of this clade (*Ficinia*, *Isolepis* and  
85 *Scirpoides*) are also endemic to or distributed in that region, and only *Erioscirpus* does not  
86 occur in southern Africa, although its species occupy similar habitats to those in the southern  
87 hemisphere as it grows in areas in Asia that contain Mediterranean floristic elements (Yano &  
88 al., 2012).

89 *Ficinia* has been included in local floras (e.g. Levyns, 1950; Gordon-Gray, 1995) and in  
90 taxonomic studies describing new taxa (e.g. Muasya, 2005; Muasya & De Lange, 2010; Muasya  
91 & al., 2012b), but no molecular analyses have focused on it. Two studies have been carried out  
92 in *Isolepis*: a monograph and a phylogenetic study of relationships at species level and  
93 infrageneric boundaries (Muasya & al., 2001b; Muasya & Simpson, 2002). The only  
94 phylogenetic analysis based on nrDNA ITS sequences resolved the remaining genera of the  
95 *Ficinia* clade (*Scirpoides*, *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus* and *Hellmuthia*) in a basal polytomy  
96 (Yano & al., 2012).

97 The aim of this study is to infer evolutionary relationships within the *Ficinia* clade  
98 using both nuclear and plastid DNA sequences and focusing mainly on *Scirpoides*,  
99 *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus*, and *Hellmuthia* with special attention to geographically  
100 representative species-level sampling for good representation of all genera.

## 103 MATERIALS AND METHODS

**Plant material: Ingroup Sampling and Herbarium Specimens.** — Sixty-nine specimens corresponding to 25 species (9 of ca. 75 species of *Ficinia*, 7 of ca. 75 species of *Isolepis*, 4 of 5 species of *Scirpoides*, 3 of 3 species of *Dracoscirpoides*, 1 of 1 species of *Afroscirpoides*, and 1 of 1 species of *Hellmuthia*) in the *Ficinia* clade *sensu* Muasya & al. (2009b) — hereafter referred to as *Ficinia* clade — were collected in the field by the authors, and samples of five species were obtained from 10 herbarium specimens (2 species of *Isolepis*, 2 species of *Scirpoides*, and 1 of 2 species of *Erioscirpus*; Appendix 1). Multiple populations of one species were analyzed to evaluate infraspecific variation. This selection reasonably covers the edaphic and climatic diversity of the species distribution range. Seven of these samples were complemented with sequences available from previously published studies. Additionally, sequences for several gene regions of 38 specimens corresponding to 22 species (5 species of *Ficinia*, 9 species of *Isolepis*, 2 species of *Scirpoides*, 2 species of *Dracoscirpoides*, 1 species of *Erioscirpus*, 1 species of *Afroscirpoides*, and 1 species of *Hellmuthia*) were obtained from GenBank. Voucher information and GenBank accession numbers of these sequences are also listed in Appendix 1.

**Plant material: Outgroup Sampling.** — Twenty-one specimens corresponding to 11 species in the *Cyperus* clade *sensu* Muasya & al. (2009b) — hereafter referred to as *Cyperus* clade — and four species of tribe Fuireneae (Cyperoideae) — *Fuirena hirsuta* (P.J.Bergius) P.L.Forbes, *F. pubescens* (Poir.) Kunth, *Schoenoplectus corymbosus* (Roth ex Roem. & Schult.) J.Raynal and *Pseudoschoenus inanis* (Thunb.) Oteng-Yeb. — were selected as outgroups. Sequences of several regions of *Isolepis humillima* (Benth.) K.L.Wilson (tribe Fuireneae) that were available in GenBank were also included.

**Molecular markers.** — A preliminary study of variation was carried out in order to identify a set of molecular markers providing enough phylogenetic resolution in the ingroup. A total of 14 markers — two nrDNA loci (ITS and ETS1f) and 12 cpDNA loci (*psbJ-petA*, *rpl32-trnL*, *rpS4R2-trnTR*, *rps16*, 5' *trnK*, 3' *trnK*, *trnCF-ycf6R*, *trnH-psbA*, *trnL* intron, *trnL-F* intergenic spacer, *ycf6F-psbMR*, *trnT-L*) — were tested. Some of these regions (ITS, ETS1f, *rpl32-trnL*, *rps16*, 5' *trnK*, *trnH-psbA*, *trnL* intron, *trnL-F* intergenic spacer) were selected on the basis of previous studies of Cyperaceae at family, tribe or genus level (Muasya & al., 2001b, 2009a, b; Starr & al., 2003; Larridon & al., 2011; Yano 2012; Martín-Bravo & al., 2013) and the others (*psbJ-petA*, *rpS4R2-trnTR*, 3' *trnK*, *trnCF-ycf6R*, *ycf6F-psbMR*, *trnT-L*) were tested following Shaw & al. (2005) to find new markers useful for the phylogeny of the group. The two nrDNA loci, ITS and ETS1f, were selected for this study because of their rapid rate of evolution compared with most plastid loci. Three cpDNA loci (*trnL* intron, *rps16* and *trnH-psbA*) were selected for the study as they gave sufficient resolution at this low taxonomic level.

All other markers did not show variation or did not amplify during the test and were discarded. The proposed combination of markers allowed us to compare the plastid and nuclear genomes.

**DNA isolation, PCR amplification and sequences edition.** — Total DNA from field-collected specimens was extracted from 1g fresh or 0.1--0.3g silica-dried culms using the modified CTAB method of Doyle and Doyle (1987), and precipitated with ethanol at -80°C for three days. In the case of tissue from herbarium specimens, samples were frozen with liquid nitrogen and ground with a pestle, and DNA was isolated using the DNeasy plant mini kit (QIAGEN Sciences, Germantown, Maryland). Double-stranded DNA amplifications were performed in a volume of 30 µl containing 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µmol/l of each dNTP, 0.5 µmol/l of each primer, 1 U of DNA polymerase (KAPA Biosystems, SA), and approximately 50 ng of DNA using a Mastercycler© thermal cycler (Eppendorf AG, Germany). The entire ITS region, comprising ITS1, 5.8S gene and ITS2, was amplified with primers ITS1 (Hsiao & al., 1994) and ITS4 (White & al., 1990) following the protocol of Hsiao & al. (1994). Amplification of *ETS1f* was performed using the primers and conditions of Starr & al. (2003). The *trnL* intron was amplified using primers C and D (Taberlet & al., 1991) following the authors' protocol. The *rps16* intron was amplified as one piece using forward and reverse primers F and R2 (Oxelman & al., 1997). Amplification of *trnH-psbA* was performed using the universal primers and protocol described by Shaw & al. (2005). The PCR products were electrophoresed on 1% agarose gels and stained with ethidium bromide. Sequencing was performed on both strands using the ABI PRISM™ Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PE Biosystems), with the amplification primer pairs. Sequencing reactions were electrophoresed on an ABI PRISM 377 DNA Sequencer, or a 3730 DNA analyzer (Applied Biosystems).

The software BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>) was used to assemble forward and reverse sequences into contigs, inspect ABI chromatograms and edit nucleotides where needed. Edited sequences were aligned with ClustalW (Larkin & al., 2007) as implemented in Bioedit. Further adjustments to the alignments were made manually. Alignments are available from the first author on request.

**Phylogenetic Analysis.** — Bayesian inference (BI) and maximum parsimony (MP) analyses were performed to infer phylogenetic relationships. Bayesian inference analyses (BI) were carried out in MrBayes v3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). The Akaike information criterion (AIC) in MrModeltest v. 2.3 (Nylander, 2004) was used to select the best nucleotide substitution model for each dataset (Table 1). Two independent parallel runs of four chains were run for 25 million generations each. Trees and parameter estimates were saved every 5,000 generations. BI analyses were run until the average deviation of split frequencies between both

simultaneous analyses reached a value below 0.01, indicating convergence (Huelsenbeck & Ronquist, 2005).

The MP analyses were executed using PAUP\* 4.0b10 (Swofford, 2003). Heuristic searches were performed with 200 replicates, random sequence addition and tree-bisection-reconnection (TBR). Gaps were treated as missing data. Bootstrap analyses of 1,000 repetitions were performed using heuristic searching with random sequence addition (100 replicates) and TBR branch swapping through the GARLI web service hosted at [molecularrevolution.org](http://molecularrevolution.org) (Bazin et al., 2014) with GARLI 2.1 (Genetic Algorithm for Rapid Likelihood Inference; Zwickl, 2006). Statistic parameters of MP analyses are shown in Table 1. DNA sequence statistics were obtained using PAUP\* 4.0b10 (Swofford, 2003) and MEGA v. 5.2 (Tamura & al., 2011).

Strict consensus trees were visualized using FigTree v. 1.3.1 (Rambaut, 2009) and Adobe Photoshop CS3. Results of bootstrap analyses were used for assessing topological congruence among the individual marker trees, comparing them in a pairwise manner to identify instances of strongly supported (i.e., with a bootstrap percentage  $\geq 85$ ) topological conflict. In all cases only a hard incongruence related to the position of one species (*Isolepis incomtula* Ness) was found. Therefore three combined analyses (the first dataset including the two nuclear loci, the second with the three plastid loci, and a third with both nuclear and plastid loci) excluding the sequences responsible for the hard incongruence were also performed. For the combined datasets, a model was selected for each partition.

## RESULTS

**Independent analyses.** — Sequence statistics for each marker are shown in Table 1. Inference methods (BI and MP) generated largely congruent tree topologies with respect to supported nodes in the ingroup, with the exceptions noted below. Supported nodes are defined herein as nodes with posterior probability (PP) values  $\geq 0.90$  and bootstrap (BS) values  $\geq 70$ .

*ITS dataset.* — The total aligned length of 108 sequences was 665 positions. Within the ingroup (97 sequences), the length ranged from 561 base pairs (bp) (*Scirpoides globifera* (L.f.) Soják) to 590 bp (*Scirpoides thunbergii* (Schrader) Soják). Three important indels were found. The number of parsimony-informative characters was 311 (46.8%) for all taxa, 91 of which were autapomorphic positions.

The majority rule consensus tree from the BI analysis (Appendix 2) was largely congruent with the MP analysis strict consensus tree (Suppl. Info 1), with the latter showing less



resolution. The *Ficinia* clade was monophyletic (1.0 PP, 82 BS). Within this clade, *Scirpoides* *s.str.* formed a well-supported group (1.0 PP, 93 BS) with a strong geographic pattern: the northern hemisphere species (*S. holoschoenus* (L.) Soják complex and *S. globifera*) had high support (1.0 PP, 97 BS), and the southern African species (*S. thunbergii*, *S. burkei* (C.B. Clarke) Goetgh., Muasya & D.A. Simpson and *S. varia* Browning). *Scirpoides dioeca* (Kunth) Browning — hereafter *Afroscirpoides dioeca* — was monophyletic (1.0 PP, 100 BS) and more closely related to the remaining genera of the *Ficinia* clade than to *Scirpoides s.str.* Within the *Ficinia* clade, *Dracoscirpoides*, *Hellmuthia* and *Erioscirpus* were also monophyletic with 1.0 PP and 89, 100 and 86 BS respectively, although relationships among them were not clearly resolved. In the case of *Dracoscirpoides*, *D. falsa* (C.B. Clarke) Muasya showed infraspecific variation. *Hellmuthia* was sister to a clade composed of *Ficinia* and *Isolepis*, which were paraphyletic groups (1.0 PP, 100 BS). In *Ficinia*, *F. nodosa* (Rottb.) Goetgh., Muasya & D.A. Simpson showed high infraspecific variation while *F. overbergensis* Muasya & C.H. Stirt, *F. indica* (Lam.) H. Pfeiff. and *Ficina* sp. C were resolved as related species (1.0 PP, 99 BS). *Isolepis* species fell into three subclades (1.0 PP and 100 BS in all cases); one of them constituting *Isolepis s.str.*, the second comprising two species more closely related to *Ficinia* than to *Isolepis* (*I. marginata* (Thunb.) A. Dietr. and *I. leucoloma* (Nees) C. Archer), and the third one including *I. incomtula* and *I. hemiuncialis* (C.B. Clarke) J. Raynal, sister to the *Ficinia-Isolepis* clade.

*ETS1f dataset.* — The total aligned length of 82 sequences was 595 positions. Within the ingroup (68 sequences), the length ranged from 471 bp (*I. leucoloma*) to 535 bp (*Isolepis fluitans* (L.) R. Br.). Three characteristic indels were found. The number of parsimony-informative characters was 404 (67.9%) for all taxa, 82 of which were autapomorphies.

The majority rule consensus tree from the BI analysis (Appendix 3) was congruent with the MP analysis strict consensus tree (Suppl. Info 2) and with the ITS BI/MP analyses (Appendix 2). In the ETS1f analyses, the *Scirpoides s.str.* clade was also well supported (1.0 PP, 79 BS), although relationships between northern hemisphere species and two South African species (*S. thunbergii* and *S. burkei*) showed low support (0.63 PP, 79 BS). *Scirpoides varia* was sister to the *Scirpoides s.str.* clade (1.0 PP, 79 BS). *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus* and *Afroscirpoides dioeca* appeared as sister (0.95-1.0 PP, 97-100 BS) to a clade formed by *Scirpoides* and the core of the *Ficinia* clade (*Ficinia*, *Isolepis*, and *Hellmuthia*, 1.0 PP, 95 BS). In *Ficinia*, relationships were resolved as in the ITS analyses, but in *Isolepis* only two clades were found; one constituting *Isolepis s.str.*, and the second composed of *I. incomtula*, *I. marginata* and *I. leucoloma*, with a closer relationship to *Ficinia* than to *Isolepis* (1.0 PP, 99 BS).

*trnL* intron dataset. — The total aligned length of 108 sequences was 766 positions. Within the ingroup (93 sequences), the length ranged from 588 bp (*D. falsa*, *D. surculosa* Muasya, Reynders & Goetgh.) to 640 bp (*Isolepis venustula* Kunth). Five important indels were found. The number of parsimony-informative characters was 439 (57.3%) for all taxa, 141 of which were autapomorphies.

The majority rule consensus tree from the BI analysis (Appendix 4) was largely congruent with the MP analysis strict consensus tree (Suppl. Info 3), but branch support was lower than in the nrDNA analyses (Appendices 2--3). In the *trnL* intron analyses, the *Ficinia* clade was not well supported, showing a close relationship to *Cyperus* clade species (0.57 PP, 60 BS). *Scirpoides s.str.* formed a moderately supported clade (0.83 PP, 88 BS) with a strong geographic pattern as found in the nrDNA analyses. In the BI analysis, *Afroscirpoides* and *Erioscirpus* were resolved as related to *Scirpoides* species (0.64 PP, 65 BS) while *Dracoscirpoides* and *Hellmuthia* formed sister clades to the *Afroscirpoides-Erioscirpus-Scirpoides* clade (0.52 PP, 63 BS). *Ficinia* and *Isolepis* species formed two clades (0.66 PP and 63 BS, 0.82 PP and 83 BS, respectively) and *Isolepis* was split into two subclades as in the ETS1f analyses: one constituting *Isolepis s.str.*, and the second, composed of *I. incomtula*, *I. marginata* and *I. leucoloma* with a closer relationship to *Ficinia* (0.83 PP, 83 BS). The MP analysis resolved *Afroscirpoides* as sister to the *Ficinia* and *Cyperus* clades. In this analysis, *Ficinia*, *Isolepis*, *Hellmuthia* and *Dracoscirpoides* formed a clade with a close relationship to *Cyperus*-clade species. *Scirpoides* and *Erioscirpus* were sister to *Ficinia-Isolepis-Hellmuthia-Dracoscirpoides-Cyperus* clade species.

*rps16* dataset. — The total aligned length of 98 sequences was 847 positions. Within the ingroup (85 sequences), the length ranged from 752 bp (*I. marginata*) to 770 bp (*Isolepis rubicunda* (Nees) Kunth, *I. venustula*). Two important indels were found. The number of parsimony-informative characters was 117 (13.8%) for all taxa, 109 of which were autapomorphies.

The majority rule consensus tree from the BI analysis (Appendix 5) was largely congruent with the MP analysis strict consensus tree (Suppl. Info 4) and with the nrDNA analyses (appendices 2--3), with the MP analysis resulting in less resolution. In the *rps16* analyses, *Scirpoides s.str.* formed a well-supported group (1.0 PP, 99 BS) with *Erioscirpus* as unsupported (0.52 PP) sister clade. As in the nrDNA analyses, *Afroscirpoides dioeca*, *Dracoscirpoides* and *Hellmuthia* had a close relationship with the *Ficinia-Isolepis* clade (0.84 PP), but in the *rps16* analysis, *Hellmuthia* was more closely related to *Dracoscirpoides* (0.68 PP). The *Ficinia-Isolepis* clade was well supported (1.0 PP, 98 BS) with *Ficinia* species nested within *Isolepis*. In *Isolepis*, three subgroups were recognized, as in the ITS analyses; one of

them constituting *Isolepis s.str.* (1.0 PP, 100 BS), the second comprising three species more closely related to *Ficinia* than to *Isolepis* (*I. marginata*, *I. leucoloma* and *I. digitata* Nees ex. Schrad., 1.0 PP, 99 BS), and the third one including *I. incomtula* and *I. hemiuncialis*, which were sister to the *Ficinia-Isolepis* clade (1.0 PP, 100 BS).

*trnH-psbA* dataset. — The total aligned length of 58 sequences was 1,124 positions. Within the ingroup (49 sequences), the length ranged from 645 bp (*I. fluitans*) to 858 bp (*Hellmuthia membranacea* (Thunb.) R.W.Haines & Lye). Seven important indels were found. The number of parsimony-informative characters was 540 (48.0%) for all taxa, 299 of which were autapomorphies.

The majority rule consensus tree from the BI analysis (Appendix 6) was congruent with the MP analysis strict consensus tree (Suppl. Info 5) and with the previous markers (Appendices 2--5). In the *trnH-psbA* analyses, *Scirpoides s.str.* formed a well-supported group with a strong geographic pattern, as for the other markers (0.96 PP, 61 BS). *Hellmuthia* was sister to the *Ficinia-Isolepis* clade (0.98 PP and 75 BS) while *Afroscirpoides* and *Dracoscirpoides* were successive sister clades to the *Ficinia-Isolepis-Hellmuthia* clade (0.95 PP and 58 BS, and 0.98 PP and 79 BS, respectively). In *Isolepis*, relationships were not clearly resolved.

**Combined analyses.** — *nrDNA combined dataset.* — The total aligned length of 67 sequences was 1,247 positions. Within the ingroup (61 sequences), the length ranged from 1,055 bp (*I. leucoloma*) to 1,087 bp (*S. burkei*). The number of parsimony-informative characters was 619 (49.6%) for all taxa, 206 of which were autapomorphic positions.

The majority rule consensus tree from the BI analysis (Fig. 1) was largely congruent with the MP analysis strict consensus tree (Suppl. Info 6). Within the *Ficinia* clade, *Scirpoides s.str.* formed a well-supported group (1.0 PP, 100 BS), with *S. globifera* well differentiated from the *S. holoschoenus* complex (1.0 PP, 100 BS) and sister of *S. varia* (1.0 PP, 100 BS). As in the ETS1f analyses, *Scirpoides* formed a clade with *Ficinia-Isolepis-Hellmuthia* (0.91 PP, with *Hellmuthia* appearing again with a close relationship to *Ficinia-Isolepis*). In *Isolepis*, two subclades were found; one constituting *Isolepis s.str.*, and the second, closer to *Ficinia*, represented by *I. leucoloma*. *Erioscirpus*, *Afroscirpoides* and *Dracoscirpoides*, were well supported as successive sister clades to *Scirpoides* and *Ficinia-Isolepis-Hellmuthia* (1.0 PP and 99 BS, 0.96 PP and 100 BS, and 0.88 PP and 100 BS, respectively).

*cpDNA combined dataset.* — The total aligned length of 46 sequences was 2,543 positions. Within the ingroup (42 sequences), the length ranged from 2,082 bp (*F. nodosa*) to 2,208 bp (*H. membranacea*). The number of parsimony-informative characters was 595 (23.4%) for all taxa, 501 of which were autapomorphies.

The majority rule consensus tree from the BI analysis (Fig. 2) was largely congruent with the MP analysis strict consensus tree (Suppl. Info 7), but in the cpDNA combined analyses branch support was lower than in the nrDNA combined analyses. Within *Scirpoides s.str.*, all clades were supported (0.99-1.0 PP, 93-100 BS) and the proposed geographic pattern was maintained, with *S. globifera* again well differentiated from the *S. holoschoenus* complex (1.0 PP, 100 BS). In the BI analysis, *Afroscirpoides dioeca* was sister to the *Scirpoides* clade, although with low support (0.82 PP, <70 BS) while *Dracoscirpoides* and *Hellmuthia* were more closely related to *Ficinia* (1.0 PP and 96 BS, and 0.98 PP and 78 BS, respectively). In *Isolepis*, relationships were not resolved (Fig. 1, Appendices 1--6). In the MP analysis, the main difference was the position of *Afroscirpoides dioeca*, which was sister to the other genera of the *Ficinia* clade, although with low support (75 BS).

*nrDNA and cpDNA combined dataset.* — The total aligned length of 43 sequences was 3,713 positions. Within the ingroup (41 sequences), the length ranged from 3,164 bp (*F. nodosa*) to 3,291 bp (*H. membranacea*). The number of parsimony-informative characters was 914 (28.9%) for all taxa, 737 of which were autapomorphies.

The majority rule consensus tree from the BI analysis (Fig. 3) was congruent with the MP analysis strict consensus tree (Suppl. Info 8). In the five loci combined analyses, *Scirpoides s.str.* was well supported (1.0 PP, 100 BS). *S. globifera* was well differentiated from the *S. holoschoenus* complex (1.0 PP, 100 BS) and *S. holoschoenus* subsp. *australis* (Murr.) Soják was separated from *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják (0.99 PP, 62 BS). *Afroscirpoides dioeca*, *Dracoscirpoides* and *Hellmuthia* were successive sister clades to *Ficinia* (0.86 PP and 77 BS, 1.0 PP and 99 BS, and 1.0 PP and 98 BS, respectively). As in cpDNA analyses, relationships were not resolved in *Isolepis* (Fig. 1, Appendices 1--6).

## DISCUSSION

**Generic circumscription and outgroup relationships.** — Our study represents the first comprehensive phylogenetic analysis of the *Ficinia* clade including representatives of the early-divergent genera of this clade. The inclusion of a number of specimens per species allowed us to delimit *Ficinia* clade genera and to infer infraspecific variation in several species. *Scirpoides*, *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus* and *Hellmuthia* were resolved as monophyletic groups for the first time, each with its own distinctive morphological traits (Table 2). *Ficinia* had been revealed as monophyletic in previous studies (Muasya & al., 2001b), but our data showed one species —*Ficinia* sp. A— (Fig. 1, Appendices 2--5) with a close relationship to some *Isolepis* (e.g. *I. marginata*, *I. leucoloma*). *Isolepis* is the only genus in the *Ficinia* clade that had already

been revealed as paraphyletic in previous studies including a representative sampling of the genus (e.g. Muasya & de Lange, 2010), which was confirmed by our results.

Species belonging to the *Ficinia* clade *sensu* Muasya & al. (2009b) have a history of being misclassified. Over time, several segregate genera of Linnaeus's *Scirpus* have been recognized, the largest being *Isolepis* and *Ficinia*. Embryological and molecular phylogenetic studies have suggested and confirmed the transfer of some of these segregate genera — previously classified in tribe Scirpeae — to tribe Cyperae, constituting the *Ficinia* clade (Muasya & al., 1998; 2001b; 2009a, b) as sister to the *Cyperus* clade (Muasya & al., 2009). In our study, we have included some *Cyperus* clade species that support such relationships. All species of tribe Fuireneae included in this study form a clade sister to tribe Cyperae.

In our study, we included one specimen of *Isolepis humillima*. Historically, botanists have had difficulties in placing this species in a genus because of its resemblance to *Isolepis* and some *Cyperus* taxa, while also having unique traits (Bentham, 1878; Wilson, 1981). Previous studies did not support its placement within *Isolepis* or *Cyperus* (Muasya & Simpson, 2002; Muasya & al., 2002, 2009b), and Shiels & al. (2014) placed the species within *Schoenoplectiella* Lye sect. *Schoenoplectiella* (Fuireneae). Our results confirm that this species is grouped in Fuireneae and not in Cyperae (Appendices 2 and 4).

**Relationships in *Scirpoides*.** — In 1972, Soják (1972a) recognized four species in *Scirpoides* (*S. holoschoenus*, *S. globifera*, *S. romana* (L.) Soják and *S. thunbergii*). Later in that year, this author (Soják, 1972b) reduced the number of species to two (*S. holoschoenus*, *S. nodosus* (Rottb.) Soják) and included four subspecies in *S. holoschoenus* complex: subsp. *holoschoenus*, subsp. *australis*, subsp. *globifera* (L.f.) Soják and subsp. *thunbergii* (Schrad.) Soják. The most recent classification of the genus (WCSP, 2014) recognizes four species in *Scirpoides* (*S. holoschoenus*, *S. burkei*, *S. dioeca* and *S. varia*) and three subspecies in the *S. holoschoenus* complex: subsp. *holoschoenus*, subsp. *globifera*, and subsp. *thunbergii*.

According to our results *Scirpoides* is composed of five species that form two groups distributed in southern Africa (*S. thunbergii*, *S. burkei*, and *S. varia*) and north Africa and the Mediterranean Basin (*S. holoschoenus* and *S. globifera*). In the northern hemisphere, the *S. holoschoenus* complex is distributed from the Iberian Peninsula to Turkey and Iran, reaching south England in the north and north Morocco in the south (Tutin & al., 1964-1980; Kukkonen, 1998). Among the subspecies described or recognized by different authors in Europe (Pignotti, 2003), only *S. holoschoenus* subsp. *australis* had some support in this study (Fig. 3). Two specimens of Soják's *S. romana* were included in this study (vouchers *García-Madrid & Cantó CASI-SCIII* and *García-Madrid et al. 172412*), but our data do not provide molecular evidence to delimit this taxon from typical *S. holoschoenus*. In *S. holoschoenus* subsp. *australis* samples

from the eastern Mediterranean are different from western Mediterranean samples. The other species from the northern hemisphere, *S. globifera*, is distributed only in the Canary Islands and north Africa. This species can be considered vicariant with *S. holoschoenus*, as both are found in the same habitat, i.e., Mediterranean tall herb humid grasslands (García-Madrid & al., 2014). In northern Morocco, both species (*S. globifera* and *S. holoschoenus*) can coexist in small populations (pers. obs.). Morphologically, *S. globifera* is characterized by having compound inflorescences with up to 200 glomeruli of small size, while typical *S. holoschoenus* has up to 25 glomeruli of bigger size (Maire, 1957). In *S. globifera*, involucre bracts are always shorter than the inflorescence and curved while in *S. holoschoenus* bracts are erect and sometimes as long as the inflorescence. In this study, European samples of *Scirpoides* fell into two well-supported clades: one with *S. globifera* specimens and the other with *S. holoschoenus* complex samples (*S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*, *S. holoschoenus* subsp. *australis*, and *S. romana*) (Figs. 1--3, Appendices 2--4 and 6). One sample of *S. globifera* from north Morocco (García-Madrid & Molina MAR7-SCI15) is more closely related to the *S. holoschoenus* complex in some analyses (Figs. 2--3, Appendix 4), suggesting a possible hybrid origin. This, however, requires more investigations. In view of our results and previous evidence, we propose that *S. globifera* specimens from the Canary Islands should be treated as a species and not as a subspecies of *S. holoschoenus*. More investigations are needed to clarify the status of *S. globifera* specimens from north Morocco.

The second group in *Scirpoides* is formed by the southern African species of the genus. While the taxonomic position of *S. burkei* has been stable since its transfer from *Scirpus* to *Scirpoides* (Muasya & al., 2000a), *S. varia* has been included in tribe Fuireneae in some classifications (Muasya & al., 1998, 2009b). Our molecular analyses place *S. varia* within the *Ficinia* clade with very high support, as sister to the other congeneric taxa sampled (Fig. 1, Appendices 2--5). Therefore, the position of *S. varia* in our analyses supports the transfer from *Scirpus* to *Scirpoides* proposed by Browning & Gordon Gray (2011) and also supported by molecular data in Shiels & al. (2014). As found for *S. globifera*, *S. thunbergii* samples form a clade well delimited from *S. holoschoenus* (Figs. 1--3, Appendices 2--6). Therefore, *S. thunbergii* should be considered at species level and not as a subspecies, as proposed by Browning & Gordon Gray (1994).

***Scirpoides dioeca*.** — This species was first described by Kunth (1837), who placed it in *Isolepis*. Based on morphological data, Browning (1989) placed the species first in the heterogeneous *Scirpus*, but later transferred it to *Scirpoides* (Browning & Gordon Gray, 1994). There exists only one molecular study that included a specimen of this taxon together with *S. thunbergii* (Yano & al., 2012). In that study, *S. dioeca* and *S. thunbergii* were not clearly

related, as they formed two different clades sister to the *Erioscirpus* and the *Ficinia-Isolepis-Hellmuthia* clades. In our results, the *S. dioeca* clade is clearly different from the other species of *Scirpoides* and well supported in all analyses (Figs. 1--3, Appendices 2--6). Our molecular data are concordant with the morphological characters of this taxon, which shares some traits with *Scirpoides s.str.* species but also has unique characters (i.e., broadly acute glumes with sub-apical mucro, spiny bract that always surpasses the inflorescence, Table 2). Therefore, a new genus —*Afroscirpoides*— including this species is proposed. This will be formally described below.

***Ficinia* and *Isolepis*.** — In our study, *Ficinia* and *Isolepis* together form a well-supported clade as previously found in other molecular studies (Muasya & al., 1998, 2001b, 2009b). Our data revealed both genera as paraphyletic, suggesting that more investigation is needed to clarify the limits between *Ficinia* and *Isolepis*, as some species have intermediate morphological characters such as the rudimentary gynophore in *I. marginata*. In *Ficinia*, *F. nodosa* has previously been included in *Scirpus*, *Isolepis* and *Scirpoides*. Muasya & al. (2000a) combined Soják's *Scirpoides nodosus* as *Ficinia nodosa* on the basis of the presence of a gynophore, a synapomorphic character shared by all *Ficinia* species except for *F. filiformis* (Lam.) Schrad. that shows a secondary loss of the gynophore (Muasya & De Lange, 2010; Table 2). In our study, this taxon is well supported in *Ficinia* and showed high infraspecific variation in all analyses.

As observed in previous studies (Muasya & al., 2001b, 2009a, b, 2014; Muasya & De Lange, 2010), some taxa of *Isolepis* (*I. marginata*, *I. leucoloma* and *I. incomtula*) are more closely related to *Ficinia* than to *Isolepis* (Fig. 1, Appendices 2--6). In the ITS and *rps16* single-locus analyses, *I. incomtula* and *I. hemiuncialis* specimens fell in a different clade, that was sister to the *Ficinia-Isolepis* clade while *I. marginata* and *I. leucoloma* were closely related to *Ficinia*, as in the other analyses (Appendices 2 and 5). However, specimens of the *Isolepis* type species (*I. setacea* (L.) R.Br.) fell in *Isolepis s.str.* The *Ficinia* type species (*Ficinia filiformis*) could not be included in this study, but has been confirmed to fall in *Ficinia* in previous studies (Muasya & De Lange, 2010).

***Dracoscirpoides*, *Erioscirpus* and *Hellmuthia*.** — Based on previous molecular studies and morphological and ecological data, Muasya & al. (2012a) transferred the Drakensberg Mountains endemics *Scirpus falsus* C.B.Clarke and *Scirpus ficinioides* Kunth to the new genus *Dracoscirpoides*. They also included a new species: *D. surculosa*. Despite the fact that this last species is geographically and morphologically well delimited, our results did not have enough resolution to clarify specific boundaries between this and the two other *Dracoscirpoides* species (Figs. 1--3, Appendices 2--6).



Yano & al. (2012) placed *Erioscirpus* (*E. comosus* (Wall.) Palla and *E. microstachyus* (Boeck.) Palla) in the *Ficinia* clade, despite the fact that the genus is distributed mainly in the Himalayas. This genus previously was classified either in *Eriophorum* L. or in *Trichophorum* Pers. (tribe Scirpeae, Koyama, 1978; Li, 1994) based on the presence of perianth bristles. Our results support the monophyly of *Erioscirpus* and its inclusion in the *Ficinia* clade (Appendices 2 and 4), as the third genus with perianth bristles in tribe Cypereae, besides *Hellmuthia* and *Dracoscirpoides*.

The monotypic *Hellmuthia* was previously placed in tribe Hypolytreae by Haines & Lye (1976) on the basis of flower morphology and fruit anatomy. First phylogenetic studies of Cyperaceae (Muasya & al., 1998) considered *Hellmuthia* (*H. membranacea*) a close relative of *Ficinia*, *Isolepis* and *Scirpoides*. Subsequent molecular analyses of Cyperaceae (Muasya & al., 2000b, 2009a, b), as well as our results, confirmed the position of *Hellmuthia* as a separate genus of the *Ficinia* clade. This species has a closer relationship to *Ficinia-Isolepis* species than the other four genera of the clade (Figs 1--3, Appendices 2, 3 and 6).

## TAXONOMIC TREATMENT

### Key to the genera of the *Ficinia* clade

1. Tufted annual or perennial herbs, without perianth bristles.....2
1. Tufted perennial herbs, with perianth bristles.....6
2. Nutlets with gynophore.....3
2. Nutlets without gynophore.....4
3. Perennial herbs with *Ficinia*-type embryo. Leaf blade with scabrid margins.....***Ficinia***
3. Annual herbs with *Cyperus*-type embryo. Leaf blade with smooth margins.....***Isolepis***
4. Annual or perennial herbs. At least one or more sessile spikelets not congested into globose head(s).....***Isolepis***
4. Perennial herbs. All sessile spikelets congested into globose heads.....5
5. Involucral bracts 1-4, culm-like and not spiny. Glumes strongly concave and truncate, with apical mucro.....***Scirpoides***
5. One involucral bract, culm-like and spiny. Glumes not strongly concave and broadly acute, with subapical mucro.....***Afroscirpoides***
6. Anthelated inflorescence with many sessile spikelets in clusters of (1) 2-3. Long perianth bristles cotton-like.....***Erioscirpus***
6. Capitulate inflorescence with sessile spikelets congested into 1 (2) heads. Perianth bristles with barbs or glume-like.....7
7. Leaf blades well-developed, with scabrid margins. Perianth bristles 6 (7) with antrorse or retrorse barbs in all flowers.....***Dracoscirpoides***
7. Leaf blades mostly poorly developed, with smooth margins. Perianth bristles as three glume-like scales in lower flowers.....***Hellmuthia***

### The new genus:

*Afroscirpoides* García-Madrid & Muasya, **gen. nov.** Genus novum, Scirpoides affine, embryonis forma Cyperi. Inflorescentia pseudolateralis, cylindratis spiculis in unico capitulo globoso aggregatis. Acutae glumae et infra-apicali mucrone – Type: *Afroscirpoides dioeca* (Kunth) García-Madrid.

Etymology: The name *Afroscirpoides* includes the topology *Afro*– (referring to its southern African origin) and the taxonomic affinity –*Scirpoides* (like *Scirpus*).

*Afroscirpoides dioeca* (Kunth) García-Madrid, **comb. nov.**  $\equiv$  *Isolepis dioeca* Kunth, Enum. Pl. 2: 199–200. 1837  $\equiv$  *Scirpus dioecus* (Kunth) Boeckeler, Linnaea 36:179. 1870  $\equiv$  *Scirpoides dioeca* (Kunth) Browning, S. African J. Bot 60 (6):318, f.3B, 4C. 1994– Lectotype (designated by Browning, 1989): South Africa, Drège s.n. (K!).

= *Scirpus schinzii* Boeckeler, Verh. Bot. Vereins Prov. Brandenburg 29:47. 1888. Type: unknown.

Tufted perennial herbs with strong rhizome. Culms up to 108 cm tall and 2–4 mm in diameter (dry), scapose with up to 4 leaves borne at basal nodes. Leaf sheaths 15–125 mm long, mouths markedly sloping, dark brown and never cancellate; blade 2–3 mm, usually not developed. Inflorescence composed of one solitary head with 10–60 sessile spikelets, pseudolateral; with one bract; bract erect, culm-like, spiny at tip and overtopping the inflorescence. Spikelets 10–60, cylindrical-oblong, 12–25 mm  $\times$  10–28 mm. Glumes spirally arranged, 1.5–2.5 mm long, light brown with ruddy dark brown discrete patches, glabrous, obovate and broadly acute, with mucro 0.2–1.0 mm long, inserted below the apex. Without perianth bristles. Tendency towards segregation of sexes. Stamens 3, abortive in female plants, anthers basifixed, up to 2 mm long. Style trifid (rudimentary in male plants). Nutlets 0.4–0.9 mm  $\times$  0.8–1.3 mm, elliptic to obovate, slightly trigonous, shortly beaked, whitish to light brown, surface smooth to reticulate. Without gynophore. Embryo of the *Cyperus*-type (elliptical, root cap lateral, coleoptile basal, germ split parallel with first leaf).

Distribution and ecology: This species is endemic to southern Africa (Namibia and South Africa). It occurs on sands and in river canyons close to the sea. Inland, it grows on sub-saline soils, in a habitat of seepage lines formed by springs of brackish water. It is sometimes associated with *Chenopodium glaucum* L. communities, in areas with domestic livestock and, therefore, heavily grazed.

#### Taxa elevated to the species level:

*Scirpoides globifera* (L.f.) Soják. in Čas. Nár. Mus., Odd. Prír. 140(3–4):127. 1972  $\equiv$  *Scirpus globifer* L.f., Suppl. Pl. 13:104. 1781, as "*globiferus*"  $\equiv$  *Holoschoenus globifer* (L.f.)

Rchb., Flora 13(2):517–518. 1830, as "*globiferus*" = *Holoschoenus globifer* (L.f.) A.Dietr., as "*globiferus*", non Reinchenbach, 1830 = *Scirpus holoschoenus* var. *globiferus* (L.f.) Parl., Fl. Ital. 2:96. 1852, as "*globiferus*" = *Scirpus holoschoenus* subsp. *globiferus* (L.f.) Husn., icon. = *Scirpoides holoschoenus* subsp. *globifera* (L.f.) Soják, Čas. Nár. Mus., Odd. Prír. 141(1–2):61. 1972 = – Type: "*Teneriffa Masson. K.L. fil.*" (LINN-SMITH 105.28!).

= *Isolepis globulifera* Steudel, Syn. Pl. Glumac. 2:97.1855. Type: unknown.

Distribution and ecology: This species is known from north Morocco and the Canary Islands (Spain). It is part of Mediterranean tall humid herb grasslands of the *Molinio-Holoschoenion*, which is one of the natural habitat types of European Community interest for conservation (habitat code 6420). This species is especially valuable as it indicates soils with water table close to the land surface most of the year in areas with very limited water due to climatic and topographical conditions.

***Scirpoides thunbergii*** (Schrad.) Soják. in Čas. Nár. Mus., Odd. Prír. 140(3–4):127. 1972 = *Isolepis thunbergii* Schrad., Gött. Gel. Anz. 3:2068. 1821 = *Isolepis thunbergiana* Schultes, Mantissa 2:67. 1824 = *Scirpus thunbergii* (Schrad.) A.Spreng., Tent. Suppl. 4. 1828 = *Isolepis thunbergiana* Nees, Linnaea 7:508. 1832 = *Holoschoenus thunbergii* (Schrad.) A.Dietr., Sp. Pl. 2:164. 1833 = *Isolepis thunbergiana* Kunth, Enum. Pl. 2:200. 1837 = *Scirpus holoschoenus* var. *thunbergii* (Schrad.) C.B.Clarke in T.A.Durand & H.Schinz, Consp. Fl. Afric. 5:623. 1894 = *Scirpoides thunbergii* (Schrad.) Soják, Čas. Nár. Mus., Odd. Prír. 141(1–2): 61 (1972) – Type: (Cape Province) "In fossis prope urbem Cap albique", *Hesse*, not located.

= *Scirpus thunbergii* Steudel, Syn. Pl. Glumac. 2:83. 1855. Type: unknown = *Scirpus thunbergianus* (Nees) Levyns, J. S. African Bot. 10:28 1944. Type: "Ad einem Graben bei Laudénbach an der Reidvallei", *Ecklon s.n.*, not located.

Distribution and ecology: This species is endemic to South Africa, with a localized distributional range within the Western Cape. It grows mainly on sandy soils near the sea but is also found inland. It occurs in or close to groundwater discharge areas characteristically dominated by diffuse, unidirectional (surface and subsurface) through-flow. The habitat of this species is under anthropogenic influence as revealed by the high content of phosphates and nitrites in soils.

## ACKNOWLEDGEMENTS

542 We thank the Complutense University of Madrid for a grant to Ana S. García-Madrid and the  
543 South African National Research Foundation (NRF; AMM). We would also like to thank Dr.  
544 Samson Chimphango, Dr. Santiago Andrés, and Mr. Ntwai Moiloa for their help during the  
545 field work in South Africa and Dr. Tracey L. Nowell for her help in the laboratory. Dr.  
546 Constantino Ruibal helped with depositing DNA sequences at GenBank. The latin translation  
547 was provided by Mr. Álvaro Nicolás.

LITERATURE CITED

**Archer, C. & Muasya, A.M.** 2012. *Cyperaceae*. In: Manning, J. & Goldblatt, P. (Eds.). Plants of the Greater Cape Floristic Region I: the Core Cape Flora, *Strelitzia* 19: 84--96. South African Biodiversity Institute, Pretoria.

**Bauters, K., Larridon, I., Reynders, M., Asselman, P., Vrijdaghs, A., Muasya, A.M., Simpson, D.A. & Goetghebeur, P.** 2014. A new classification for *Lipocarpa* and *Volkiella* as infrageneric taxa of *Cyperus* s.l. (*Cypereae*, *Cyperoideae*, *Cyperaceae*): insights from species tree reconstruction supplemented with morphological and floral developmental data. *Phytotaxa*, 166 (1), DOI: <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.166.1.1>

**Bazin, A.L., Zwickl, D.J. & Cummings, M.P.** 2014. A Gateway for Phylogenetic Analysis Powered by Grid Computing Featuring GARLI 2.0. *Syst. Biol.* 63 (5): 812--818, DOI: 10.1093/sysbio/syu031.

**Bentham, G.** 1878. *Cyperaceae*. Pp. 246--49 in Reeve, L. & al. (eds.), *Flora Australiensis*: a description of the plants of the Australian territory. vol. 7. London.

**Browning, J.** 1989. Studies in *Cyperaceae* in southern Africa 14: A reappraisal of *Scirpus nodosus* and *S. dioecus*. *S. Afr. J. Bot.* 55: 422--432.

**Browning, J. & Gordon-Gray, K.D.** 1994. Studies in *Cyperaceae* in Southern Africa 24. Three species of *Scirpoides*. *S. Afr. J. Bot.* 60: 315--320.

**Browning, J. & Gordon-Gray, K.D.** 2011. Studies in *Cyperaceae* in Southern Africa 43: *Scirpoides varius* Browning — a new name for *Scirpus varius* Boeck. Ex. C. B. Clarke. *S. Afr. J. Bot.* 77: 506--508.

**Bruhl, J.J.** 1995. Sedge genera of the world: Relationships and a new classification of the *Cyperaceae*. *Aust. Syst. Bot.* 8: 125--305.

**Doyle, J.J. & Doyle, J.L.** 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19: 11--15.

**García-Madrid, A.S., Molina, J.A. & Cantó, P.** 2014. Classification of habitats highlights priorities for conservation policies: The case of Spanish Mediterranean tall humid herb grasslands. *J. Nat. Conserv.* 22: 142--156. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnc.2013.10.002>

**Goetghebeur, P.** 1998. *Cyperaceae*. Pp. 141--190 in: Kubitzki, K. (ed.), *The families and genera of vascular plants 4, flowering plants, monocotyledons: Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)*. Berlin: Springer-Verlag.

**Gordon-Gray, K.D.** 1995. *Cyperaceae* in Natal. *Strelitzia* 2. Pretoria: National Botanical Institute.

**Haines, R.W. & Lye, K.A.** 1976: Studies in African *Cyperaceae* 14. The genus *Hellmuthia* Steud. *Bot. Not.* 129: 61--67.

**Huelsenbeck, J.P. & Ronquist, F.** 2005. Bayesian analysis of molecular evolution using MrBayes. Pp. 183--232 in: Nielsen, R. (ed.), *Statistical Methods in Molecular Evolution*. New York: Springer-Verlag.

- Hsiao, C., Chatterton, N.J., Asay, K.H. & Jensen, K.B.** 1994. Phylogenetic relationships of 10 grass species: an assessment of phylogenetic utility of the internal transcribed spacer region in nuclear ribosomal DNA in monocots. *Genome* 37: 112--120.
- Jung, J. & Choi, H.K.** 2013. Recognition of two major clades and early diverged groups within the subfamily *Cyeroideae* (*Cyperaceae*) including Korean sedges. *J. Plant Res.* 126: 335--349. DOI 10.1007/s10265-012-0534-2
- Koyama T.** 1978. *Cyperaceae*. Pp. 96--120 in: Hara, H., Stearn, W.T. & Williams, H.J. (eds), *An enumeration of the flowering plants of Nepal I*. London: British Museum (Natural History).
- Kukkonen, I.** 1998. *Cyperaceae*. Pp. 1--307 in: Rechinger, K.H. (ed.), *Flora Iranica* 173. Graz: Akademische Druck und Verlagsanstalt.
- Kunth, C.S.** 1837. *Enumeratio plantarum 2. Cyperographia synoptica*. Stuttgart & Tübingen: Sumtibus J.G. Cotta.
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J. & Higgins, D.G.** 2007. *ClustalW and ClustalX version 2*. *Bioinformatics* 23: 2947--2948. doi:10.1093/bioinformatics/btm404
- Larridon, I., Reynders, M., Huygh, W., Bauters, K., Van de Putte, K., Muasya, A.M., Boeckx, P., Simpson, D., Vrijdaghs, A. & Goetghebeur, P.** 2011. Affinities in C3 *Cyperus* lineages (*Cyperaceae*) revealed using molecular phylogenetic data and carbon isotope analysis. *Bot. J. Linn. Soc.* 167: 19--46.
- Larridon, I., Bauters, K., Reynders, M., Huygh, W., Muasya, A.M., Simpson, D.A. & Goetghebeur, P.** 2013. Towards a new classification of the giant paraphyletic genus *Cyperus* (*Cyperaceae*): phylogenetic relationships and generic delimitation in C4 *Cyperus*. *Bot. J. Linn. Soc.* 172: 106--126.
- Levy, M.R.** 1950. *Cyperaceae*. Pp. 97-132 in: Adamson, R.S. & Salter, T.M. (eds.), *Flora of the Cape Peninsula*. Juta, Cape Town, Johannesburg.
- Li P-Q.** 1994. *Cyperaceae*. Pp. 2321--2386 in: Wang, W.-T., Wu, S.-G., Lang, K.-Y., Li, P.-Q., Pu, F.-T. & Chen, S.-K. (eds), *Vascular plants of the Hengduan Mountains 1 (2): Dicotyledoneae (Diapensiaceae to Asteraceae) to Monocotyledoneae (Typhaceae to Orchidaceae)*. Beijing: Science Press.
- Maire, R.** 1957. *Flore de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara)*. Volume IV: *Monocotyledonae: Glumifloreae: Cyperaceae, Principes, Spathiflorae, Commelinales*. Pp. 51-54. Paris: Paul Lechevalier.
- Martín-Bravo, S., Escudero, M., Miguez, M., Jiménez-Mejías, P. & Luceño, M.** 2013. Molecular and morphological evidence for a new species from South Africa: *Carex rainbowii* (*Cyperaceae*). *S. Afr. J. Bot.* 87: 85--91.
- Muasya, A.M.** 2005. *Ficinia anysbergensis* and *F. esterhuyseniae* (*Cyperaceae*), two new species from the Cape Floristic Region of South Africa. *S. Afr. J. Bot.* 71: 197--200.

- Muasya, A.M. & Simpson, D.A. 2002. A monograph of the genus *Isolepis* R. Br. (Cyperaceae). *Kew Bull.* 57: 257--362.
- Muasya, A.M. & de Lange, P.J. 2010. *Ficinia spiralis* (Cyperaceae) a new genus and combination for *Desmoschoenus spiralis*. *New Zeal. J. Bot.* 48: 31--39.
- Muasya, A.M., Simpson, D.A., Chase, M.W. & Culham, A. 1998. An assessment of the suprageneric phylogeny in Cyperaceae using rbcL DNA sequences. *Plant Syst. Evol.* 211: 257--271.
- Muasya, A.M., Simpson, A.D. & Goetghebeur, P. 2000a. New Combinations in *Trichophorum*, *Scirpoides*, and *Ficinia* (Cyperaceae). *Novon*, 10: 132--133.
- Muasya, A.M., Bruhl, J.J., Simpson, D.A., Culham, A. & Chase, M.W. 2000b. Suprageneric phylogeny of Cyperaceae: A combined analysis. Pp. 593--601 in Wilson, K.L. & Morrison, D.A. (eds.), *Monocots: Systematics and Evolution*. CSIRO, Melbourne, Victoria.
- Muasya, A.M., Simpson, D.A. & Chase, M.W. 2001a. Generic relationships and character evolution in *Cyperus* s.l. *Syst. Geogr. Plants* 71: 539--544.
- Muasya, A.M., Simpson, D.A., Chase, M.W. & Culham, A. 2001b. A phylogeny of *Isolepis* (Cyperaceae) inferred using plastid rbcL and trnL-F sequence data. *Syst. Bot.* 26: 342--353.
- Muasya, A.M., Simpson, D.A. & Chase, M.W. 2002. Phylogenetic relationships in *Cyperus* s.l. (Cyperaceae) inferred from plastid DNA sequence data. *Bot. J. Linn. Soc.* 138: 145--153.
- Muasya, A.M., Simpson, D.A., Verboom, G.A., Goetghebeur, P., Naczi, R.F.C., Chase, M.W. & Smets, E. 2009a. Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data: current progress and future prospects. *Bot. Rev.* 75: 2--21.
- Muasya, A.M., Vrijdaghs, A., Simpson, D.A., Chase, M.W., Goetghebeur, P. & Smets, E. 2009b. What is a Genus in Cyperaceae: Phylogeny, Character Homology Assessment and Generic Circumscription in Cyperaceae. *Bot. Rev.* 75: 52--66.
- Muasya, A.M., Reynders, M., Goetghebeur, P., Simpson, D.A. & Vrijdaghs, A. 2012a. *Dracoscirpoides* (Cyperaceae) — A new genus from Southern Africa, its taxonomy and floral ontogeny. *S. Afr. J. Bot.* 78: 104--115. DOI:10.1016/j.sajb.2011.05.011
- Muasya, A.M., Viljoen, J.A., Stirton, C.H. & Helme, N.A. 2012b. Two new leafless species of *Ficinia* (Cyperaceae, Cyperaceae) from the Greater Cape Floristic Region of South Africa. *S. Afr. J. Bot.* 79: 96--101.
- Muasya, A.M., Viljoen, J.A., Dlodlu, M.N. & Demissew, S. 2014. Phylogenetic position of *Cyperus clandestinus* (Cyperaceae, Cyperaceae) clarified by morphological and molecular evidence. *Nord. J. Bot.* 32 (1), 106--114.
- Nees von Esenbeck, C.G. 1835. Übersicht der Cyperaceengattungen. *Linnaea* 9: 273--306.
- Nylander, J.A.A. 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Uppsala University: Evolutionary Biology Centre.
- Oxelman, B., Lidén, M. & Berglund, D. 1997. Chloroplast *rps16* intron phylogeny of the tribe Sileneae (Caryophyllaceae). *Plant Syst. Evol.* 206: 393--410.
- Pignotti, L. 2003. *Scirpus* L. and related genera (Cyperaceae) in Italy. *Webbia* 58 (2): 281--400.

- Prychid, C.J. & Bruhl, J.J.** 2013. Floral ontogeny and gene protein localisation rules out euanthial interpretation of reproductive units in *Lepironia* (Cyperaceae, Mapanioideae, Chrysitricheae). *Ann. Bot.* 112, 161--177.
- Rambaut, A.** 2009. *FigTree*, ver. 1.3.1. [Online]. Available: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/> [2014, March 21].
- Reid, C., Carter, R. & Urbatsch, L.** 2014. Phylogenetic insights into New World *Cyperus* (Cyperaceae) using nuclear ITS sequences. *Brittonia*, 66: 292-395.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P.** 2003. MRBAYES 3: bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572--1574.
- Shaw, J., Lickey, E.B., Beck, J.T., Farmer, S.B., Liu, W., Miller, J., Siripun, K.C., Winder, C.T., Schilling, E.E. & Small, R.L.** 2005. The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *Amer. J. Bot.* 92: 142--166.
- Shiels, D., Hurlbut, D.L., Lichtenwald, S.K. & Monfils, A.K.** 2014. Monophyly and Phylogeny of *Schoenoplectus* and *Schoenoplectiella* (Cyperaceae): Evidence from Chloroplast and Nuclear DNA Sequences. *Syst. Bot.* 39: 132--44.
- Simpson, D.A.** 1995. Relationships with *Cyperales*. Pp. 497--409 in: Rudall, P.J., Cribb, P.J., Cutler, D.F. & Humpries, C.J. (eds.), *Monocotyledons: Systematics and Evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond.
- Simpson, D.A. & Inglis, C.A.** 2001. *Cyperaceae* of economic, ethnobotanical and horticultural importance: a checklist. *Kew Bull.* 56: 257--360.
- Simpson, D.A., Muasya, A.M., Alves, M.V., Bruhl, J.J., Dhooge, S., Chase, M.W., Furness, C.A., Ghamkhar, K., Goetghebeur, P., Hodkinson, T.R., Marchant, A.D., Reznicek, A.A., Nieuwborg, R., Roalson, E.H., Smets, E., Starr, J.R., Thomas, W.W., Wilson, K.L. & Zhang, X.** 2007. Phylogeny of *Cyperaceae* based on DNA sequence data – a new rbcL analysis. *Aliso* 23: 72--83.
- Soják, J.** 1972a. Doplnky k nomenclature některých rodů (Phanerogamae). V *Casopise Národní Muzea*, odd. přír. 140: 127--134.
- Soják, J.** 1972b. Doplnky k nomenclature některých rodů (Phanerogamae). V *Casopise Národní Muzea*, odd. přír. 141: 61--63.
- Starr, J.R., Harris, S.A., & Simpson, D.A.** 2003. Potential of the 5' and 3' ends of the IGS (intergenic spacer) of rDNA in the *Cyperaceae*: new sequences for lower-level phylogenies in sedges with an example from *Uncinia* Pers. *Int. J. Plant Sci.* 164: 213--227.
- Swofford, D.L.** 2003. PAUP\* Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods), 4.0 beta 10. Sunderland: Sinauer Associates.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. & Bouvet, J.** 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* 17: 1105--1109.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. & Kumar S.** 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* 28: 2731--2739.



- Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M. & al.** 1964–1980. *Flora Europaea* (Vol. I–V) Cambridge: Cambridge University Press.
- Van der Veken, P.** 1965. Contribution à l'embryographie systématique des *Cyperaceae-Cyperoideae*. *Bull. Jard. bot. Ét. Brux.* 35: 285--354.
- WCSP.** 2014. *World Checklist of Selected Plant Families*. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://apps.kew.org/wcsp/> Retrieved 15/09/2014.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J.** 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315--322 in: Innis, M., Gelfand, D., Sninsky, J. & White, T. (eds.), *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Wilson, K.L.** 1981. A synopsis of the genus *Scirpus* (*Cyperaceae*) in Australia. *Telopea* 2: 153--172.
- Yano, O., Ikeda, H., Watson, M.F., Rajbhandari, K.R., Jin, X.F., Hoshino, T., Muasya, A.M. & Ohba, H.** 2012. Phylogenetic position of the Himalayan genus *Erioscirpus* (*Cyperaceae*) inferred from DNA sequence data. *Bot. J. Linn. Soc.* 170: 1--11.
- Zwickl, D.J.** 2006. Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion. Ph.D. dissertation, The University of Texas at Austin.

**Table 1.** Sequence statistics (all taxa and ingroup taxa) for individual locus analyses and the three combined datasets (nrDNA loci, cpDNA loci and combined nrDNA and cpDNA). Models of nucleotide substitution for the Bayesian Inference (BI) analyses and average standard deviation of split frequencies obtained in all analyses. Column headers indicate data partitions. **nrDNA**= Combined analysis of ITS and ETS1f; **cpDNA**= Combined analysis of *trnL* intron, *rps16* and *trnH-psbA*; **nrDNA + cpDNA**= Combined analysis of the five loci; **m.p.t.**= most parsimonious trees; **CI**: MP Consistency Index; **RI**: MP Retention Index.

	ITS	ETS1f	<i>trnL</i> intron	<i>rps16</i>	<i>trnH-psbA</i>	nrDNA	cpDNA	nrDNA + cpDNA
Total number of sequences	108	82	108	98	58	67	46	43
Number of sequences (ingroup)	97	68	93	85	49	61	42	41
Aligned length (base pair)	665	595	766	847	1,124	1,247	2,543	3,713
Informative sites (ingroup)	242 (36.4%)	252 (42.4%)	166 (21.7%)	92 (10.9%)	347 (30.9%)	437 (35.0%)	484 (19.0%)	856 (23.1%)
Informative sites (all taxa)	311 (46.8%)	404 (67.9%)	439 (57.3%)	117 (13.8%)	540 (48.0%)	619 (49.6%)	595 (23.4%)	914 (28.9%)
Number of m.p.t.	1,281	2,000	2,000	2,000	2,000	34	1,776	6
Tree length	1,527	1,799	977	370	1,578	2,377	1,616	2,606
CI	0.46	0.52	0.79	0.75	0.78	0.58	0.83	0.81
RI	0.86	0.82	0.94	0.94	0.92	0.85	0.94	0.93
BI Model of nucleotide substitution	GTR + I + G	GTR + I + G	F81 + G	GTR + G	GTR + G	-	-	-
BI Average standard deviation of split frequencies	0.001660	0.001970	0.001969	0.001864	0.001848	0.001211	0.001593	0.001406

**Table 2.** Comparison of morphological characters of *Ficinia* clade genera. **Capitate** inflorescence refers to one dense cluster of sessile spikelets congested on a contracted axis. **Pseudolateral** inflorescence refers to apparently lateral inflorescences. **Anthelate** inflorescence refers to an open crateriform inflorescence with shortened main axis and elongated lateral axes, so that the central partial inflorescence is sessile or sub-sessile, while the lateral partial inflorescences are pedunculated.

	<i>Ficinia</i> Schrad.	<i>Isolepis</i> R.Br.	<i>Scirpoides</i> Ség.	<i>Dracoscirpoides</i> Muasya	<i>Erioscirpus</i> Palla	<i>Hellmuthia</i> Steud.	<i>Afroscirpoides</i> García-Madrid & Muasya
<b>Leaf blade</b>	Mostly well developed, flat to canaliculate; margins scabrid	Mostly well developed, flat; margins smooth	Mostly poorly developed (< 5 mm long), when present, semi-terete culm-like lamina; margin smooth	Well developed, canaliculate; margins scabrid	Well developed, canaliculate; margins scabrid	Mostly poorly developed (<5 mm long), when present, flat; margins smooth	Poorly developed (<5 mm long); margins smooth
<b>Inflorescence type</b>	Capitate, spike, pseudolateral	Capitate	Capitate, anthelate, pseudolateral	Capitate, pseudolateral	Anthelate	Capitate	Capitate, pseudolateral
<b>Spikelet</b>	One or more sessile spikelets	One or more sessile spikelets	Sessile spikelets (3-200) congested into globose heads	Sessile spikelets congested into one or rarely two heads	Many sessile spikelets in clusters of (1) 2-3	Up to 10 sessile spikelets congested into a solitary head	10-60 sessile spikelets congested into a solitary head
<b>Involucral bract(s)</b>	1-10, leaf-like with scabrid margins or culm-like with smooth margins. Shorter or longer than inflorescence	1-4, shorter or longer than spikelet(s), culm- or leaf-like	1-4, usually shorter than inflorescence, culm-like	2-4, leaf-like with scabrid margins. Longer than inflorescence	5-10, leaf-like. Longer than inflorescence	3-5, leaf-like. Longer than inflorescence	1, with acute apex and always longer than inflorescence. Culm-like
<b>Perianth type in fertile flowers</b>	Absent (single case recorded)	Absent	Absent	6 (7) bristles, scabrid with antrorse or retrorse barbs Appearing semi-distichous at base to spirally arranged	Cotton-like long perianth bristles	3 scales in lower flowers	Absent
<b>Glume arrangement</b>	Spiral, few distichous	Spiral, few distichous	Spiral		Spiral	Spiral	Spiral

<b>Glume characteristics</b>	Glabrous (hairy in <i>F. laevis</i> ), cartilaginous. Ovate to obovate. With acute to obtuse apex, sometimes mucronate	Glabrous, herbaceous or cartilaginous. Ovate to obovate. With acute to obtuse apex, sometimes mucronate	Glabrous or slightly ciliate, membranous. Obovate, keeled, strongly concave. Truncate and mucronate	Margins usually hyaline, midrib often scabrid in the lower part. Elliptic to lanceolate	Glabrous. Ovate. With acute apex, mucronate	Glabrous. Ovate. With acute apex, mucronate	Glabrous, not widely membranous. Obovate, not strongly concave. Broadly acute, with sub-apical mucro
<b>Stamens</b>	1 to 3	1 to 3	3	3	2	3	3 (Abortive in female plants)
<b>Style</b>	Bifid or trifid	Bifid or trifid	Trifid	Trifid	Trifid	Trifid	Trifid (rudimentary in male plants)
<b>Gynophore</b>	Present (secondary loss in <i>F. filiformis</i> )	Absent (only in <i>I. marginata</i> )	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
<b>Nutlet surface</b>	Smooth, papillose or reticulate	Smooth, papillose or reticulate	Reticulate	Reticulate, scabrid or smooth towards apex	Papillose or reticulate	Reticulate	Smooth to reticulate
<b>Embryo type</b>	<i>Ficinia</i>	<i>Cyperus</i> and <i>Ficinia</i>	<i>Cyperus</i>	<i>Cyperus</i>	<i>Cyperus</i>	<i>Cyperus</i>	<i>Cyperus</i>
<b>Life form</b>	Perennial	Annual or perennial	Perennial	Perennial	Perennial	Perennial	Perennial
<b>Number of species</b>	ca. 75	ca. 75	5	3	2	1	1
<b>Distribution</b>	Southern and tropical Africa, Australia, New Zealand, circumpolar	Southern and tropical Africa, Americas, Australasia, Europe	Southern Africa, Europe	Southern Africa	Himalayas	Southern Africa (Cape)	Southern Africa

**Figure Captions. Manuscript: García-Madrid et al. “Towards resolving phylogenetic relationships in the *Ficinia* clade and description of the new genus *Afroscirpoides* (Cyperaceae)”.**

**Figure 1.** Phylogram of the majority rule consensus tree from the BI analysis based on the nrDNA combined dataset (ITS and ETS1f). See Table 1 for sequence and tree statistics. \*\*\*: Strongly supported branches ( $\geq 0.90$  posterior probability and/or  $\geq 90$  bootstrap values); \*\*: Moderately supported branches (80-89 bootstrap values); \*: Supported branches (70-79 bootstrap values). Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Figure 2.** Phylogram of the majority rule consensus tree from the BI analysis based on the cpDNA combined dataset (*trnL* intron, *rps16* and *trnH-psbA*). See Table 1 for sequence and tree statistics. \*\*\*: Strongly supported branches ( $\geq 0.90$  posterior probability and/or  $\geq 90$  bootstrap values); \*\*: Moderately supported branches (80-89 bootstrap values); \*: Supported branches (70-79 bootstrap values). Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Figure 3.** Phylogram of the majority rule consensus tree from the BI analysis based on the nrDNA + cpDNA combined dataset (ITS, ETS1f, *trnL* intron, *rps16* and *trnH-psbA*). See Table 1 for sequence and tree statistics. \*\*\*: Strongly supported branches ( $\geq 0.90$  posterior probability and/or  $\geq 90$  bootstrap values); \*\*: Moderately supported branches (80-89 bootstrap values); \*: Supported branches (70-79 bootstrap values). Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Appendix 1.** List of samples used in the molecular study with species names, voucher information, herbarium acronym, origin and GenBank accession numbers of sequences: ITS; ETS1f; *trnL* intron; *rps16*; *trnH-psbA*. Missing sequence data are indicated by an n-dash (-). Sequences obtained from GenBank are indicated by an asterisk (\*).

**Appendix 2.** Phylogram of the majority rule consensus tree from the BI analysis based on the ITS single-locus DNA sequences. See Table 1 for sequence and tree statistics. \*\*\*: Strongly supported branches ( $\geq 0.90$  posterior probability and/or  $\geq 90$  bootstrap values); \*\*: Moderately supported branches (80-89 bootstrap values); \*: Supported branches (70-79 bootstrap values). Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Appendix 3.** Phylogram of the majority rule consensus tree from the BI analysis based on the ETS1f single-locus DNA sequences. See Table 1 for sequence and tree statistics. \*\*\*: Strongly supported branches ( $\geq 0.90$  posterior probability and/or  $\geq 90$  bootstrap values); \*\*: Moderately supported branches (80-89 bootstrap values); \*: Supported branches (70-79 bootstrap values). Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Appendix 4.** Phylogram of the majority rule consensus tree from the BI analysis based on the *trnL* intron single-locus DNA sequences. See Table 1 for sequence and tree statistics. \*\*\*: Strongly supported branches ( $\geq 0.90$  posterior probability and/or  $\geq 90$  bootstrap values); \*\*: Moderately supported branches (80-89 bootstrap values); \*: Supported branches (70-79 bootstrap values). Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Appendix 5.** Phylogram of the majority rule consensus tree from the BI analysis based on the *rps16* single-locus DNA sequences. See Table 1 for sequence and tree statistics. \*\*\*: Strongly supported branches ( $\geq 0.90$  posterior probability and/or  $\geq 90$  bootstrap values); \*\*: Moderately supported branches (80-89 bootstrap values); \*: Supported branches (70-79 bootstrap values). Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Appendix 6.** Phylogram of the majority rule consensus tree from the BI analysis based on the *trnH-psbA* single-locus DNA sequences. See Table 1 for sequence and tree statistics. \*\*\*: Strongly supported branches ( $\geq 0.90$  posterior probability and/or  $\geq 90$  bootstrap values); \*\*: Moderately supported branches (80-89 bootstrap values); \*: Supported branches (70-79 bootstrap values). Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Supplementary Information 1.** Cladogram of one of the most parsimonious trees from the MP analysis based on the ITS single-locus DNA sequences. See Table 1 for sequence and tree statistics. Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Supplementary Information 2.** Cladogram of one of the most parsimonious trees from the MP analysis based on the ETS1f single-locus DNA sequences. See Table 1 for sequence and tree statistics. Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Supplementary Information 3.** Cladogram of one of the most parsimonious trees from the MP analysis based on the *trnL* intron single-locus DNA sequences. See Table 1 for sequence and tree statistics. Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Supplementary Information 4.** Cladogram of one of the most parsimonious trees from the MP analysis based on the *rps16* single-locus DNA sequences. See Table 1 for sequence and tree statistics. Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

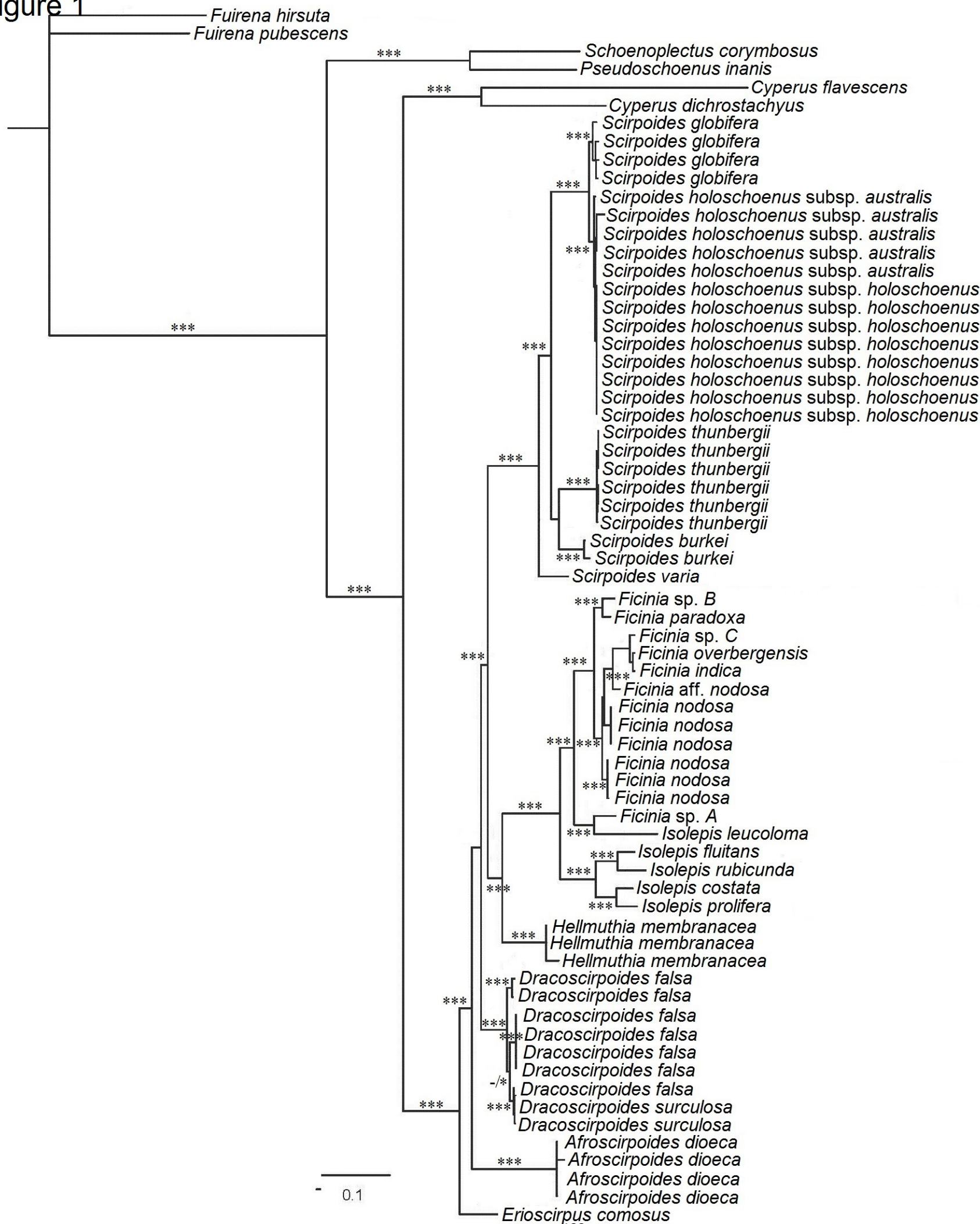
**Supplementary Information 5.** Cladogram of one of the most parsimonious trees from the MP analysis based on the *trnH-psbA* single-locus DNA sequences. See Table 1 for sequence and tree statistics. Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Supplementary Information 6.** Cladogram of one of the most parsimonious trees from the MP analysis based on the nrDNA combined dataset. See Table 1 for sequence and tree statistics. Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Supplementary Information 7.** Cladogram of one of the most parsimonious trees from the MP analysis based on the cpDNA combined dataset. See Table 1 for sequence and tree statistics. Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

**Supplementary Information 8.** Cladogram of one of the most parsimonious trees from the MP analysis based on the nrDNA + cpDNA combined dataset. See Table 1 for sequence and tree statistics. Classification of tribes by Goetghebeur (1998) and Simpson & al. (2007) is shown on the right.

Figure 1



*Fuireneae*

*Cypereae:*  
*Cyperus* clade

*Cypereae:*  
*Ficinia* clade

0.1



Figure 2

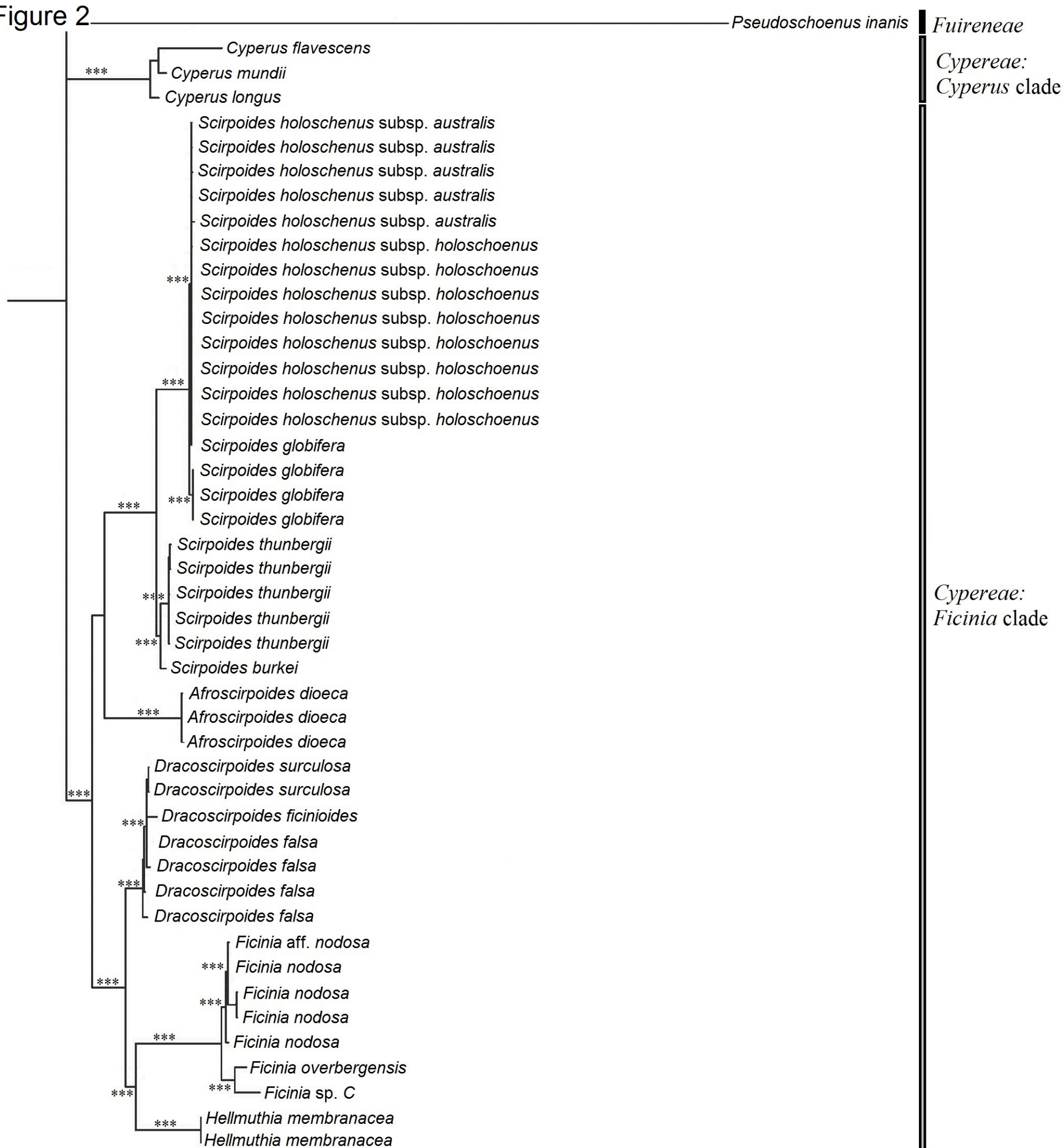
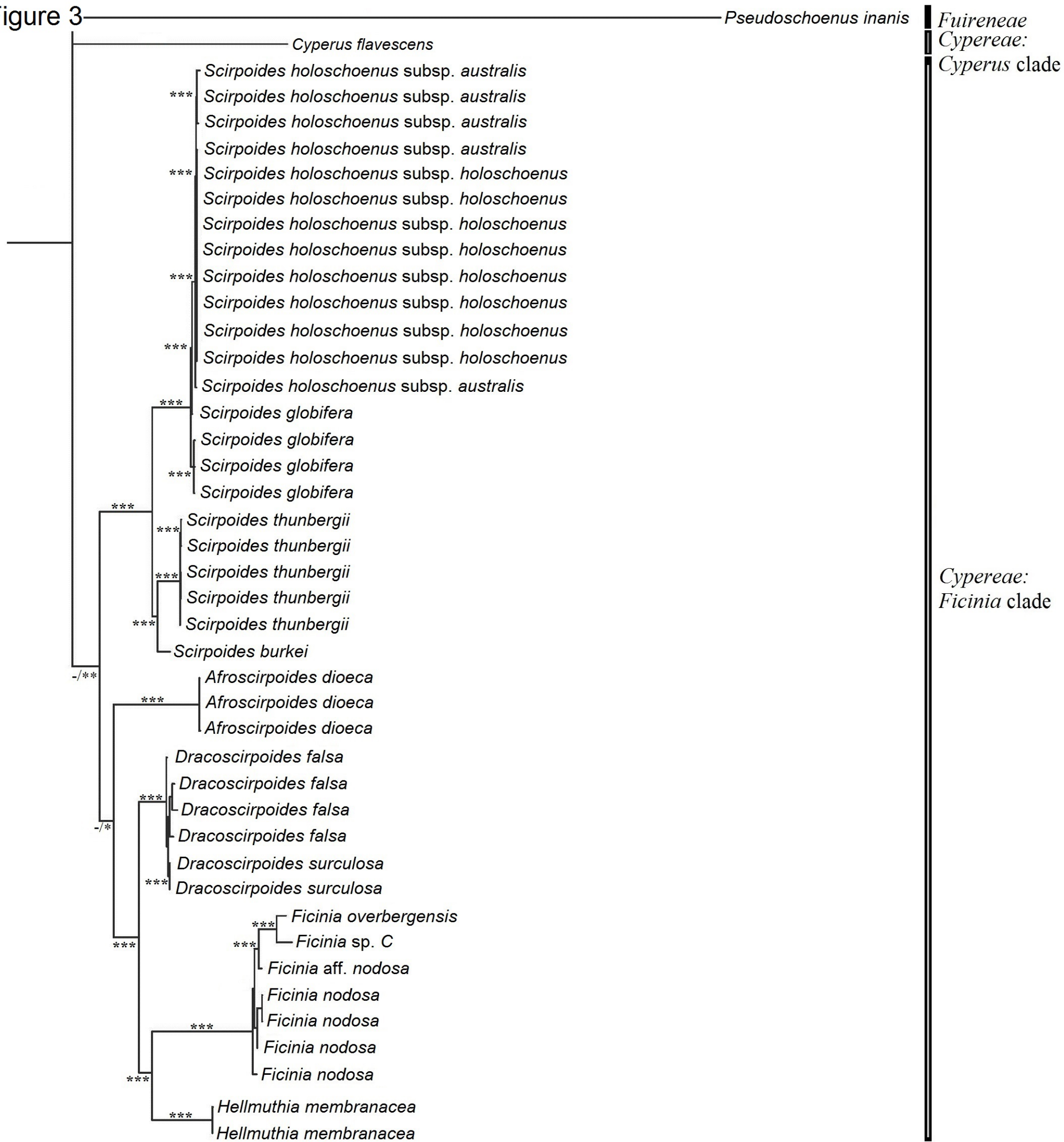


Figure 3



**Appendix 1.** List of samples used in the molecular study with species names, voucher information, herbarium acronym, origin and GenBank accession numbers of sequences: ITS; ETS1f; *trnL* intron; *rps16*; *trnH-psbA*. Missing sequence data are indicated by an n-dash (–). Sequences obtained from GenBank are indicated by an asterisk (\*).

**FUIRENEAE:** *Fuirena hirsuta* (P.J.Bergius) P.L.Forbes; *Muasya* 5637 (BOL); South Africa; KM462262; KM462194; KM462530; –; KM462411; *Fuirena pubescens* (Poir.) Kunth; *Muasya* 6147 (BOL); South Africa; KM462263; KM462197; KM462531; –; KM462412; *Pseudoschoenus inanis* (Thunb.) Oteng-Yeb.; *Muasya* 4384 (BOL); South Africa; KM462265; KM462196; KM462533; KM462401; KM462413; *Schoenoplectus corymbosus* (Roth ex Roem. & Schult.) J.Raynal; *Muasya* 4915 (BOL); South Africa; KM462264; KM462195; KM462532; KM462400; –; *Isolepis humillima* (Benth.) K.L.Wilson; *Wilson* 5280 (K,NT); Australia; KC677978\*; –; KC678066\*; –; –; **CYPEREAE:** **CYPERUS CLADE:** *Cyperus ascocapensis* Bauters; *Hess* 52/1760 (GENT); Angola; –; HQ705957\*; –; –; *Cyperus ascocapensis* Bauters; *Muasya* 1009 (K); Kenya; AB685858\*; –; AJ295757\*; KM462408; –; *Cyperus cuspidatus* Kunth; *Jongkind & Nieuwhuis* 2847 (GENT); Ghana; –; HQ705954\*; –; –; HQ705823\*; *Cyperus cuspidatus* Kunth; *Reid and Carter* 7760 (LSU); USA; KF150544\*; –; –; –; *Cyperus cuspidatus* Kunth; *Muasya* 1374 (K); Kenya; –; –; AF449557\*; KM462405; –; *Cyperus cyperoides* (L.) Kuntze; *Muasya* 1277 (BOL); South Africa; KM462266; –; KM462535; KM462404; –; *Cyperus dichrostachyus* Hochst. ex A.Rich.; *Muasya & Knox* 976 (EA,K); Kenya; JX566744\*; HQ705944\*; –; KM462403; –; *Cyperus flavescens* L.; *Goetghebeur* 10224 (GENT); Belgium; –; HE993999\*; –; –; HE993930\*; *Cyperus flavescens* L.; *Muasya* 1022 (EA,K); Kenya; –; –; AJ295763\*; AF449547\*; –; *Cyperus flavescens* L.; *Reid* 7576 (LSU); USA; KF150598\*; –; –; –; *Cyperus killingiella* Larridon; *Muasya & Muthama* 1262 (EA); Kenya; –; HQ705952\*; –; –; *Cyperus killingiella* Larridon; *Muasya* 1118 (K); Zimbabwe; –; –; AJ295807\*; KM462410; –; *Cyperus longus* L.; *Farjon* 217 (GENT); Netherlands; –; HE993977\*; –; –; HE993912\*; *Cyperus longus* L.; *Muasya* 1044 (K); Kenya; –; –; AY040598\*; AF449528\*; –; *Cyperus mindorensis* (Steud.) Huygh; *Goetghebeur* 11989 (GENT); BG Ghent; –; HE993989\*; –; –; *Cyperus mindorensis* (Steud.) Huygh; *Muasya* 1020 (BOL); Kenya; –; –; KM462536; KM462409; –; *Cyperus mundii* (Nees) Kunth; *Muasya & Knox* 1018 (EA); Kenya; –; HE994013\*; KM462534; KM462402; HE993937\*; *Cyperus papyrus* L.; *Goetghebeur* 5866 (GENT); BG Ghent; –; HQ705962\*; –; –; HQ705830\*; *Cyperus papyrus* L.; *Hepper* 4213 (K); Chad; AY242048\*; –; AJ295759\*; KM462406; –; *Cyperus persquarrosus* T.Koyama; *Larridon et al.* 2010-118 (GENT); Madagascar; –;

HF586623\*; –; –; HF586541\*; *Cyperus persquarrosus* T.Koyama; *Muasya* 972 (K); Kenya; –; –; AJ295762\*; KM462407; –; **CYPEREAE: FICINIA CLADE: *Afroscirpoides dioeca*** (Kunth) García-Madrid; *Muasya & García-Madrid* 7036 (BOL); South Africa; KM462292; KM462221; KM462487; KM462359; KM462432; *Afroscirpoides dioeca* (Kunth) García-Madrid; *Muasya & García-Madrid* 7046 (BOL); South Africa; KM462293; KM462222; KM462488; KM462360; KM462433; *Afroscirpoides dioeca* (Kunth) García-Madrid; *Muasya* 2294 (BOL); South Africa; KM462288; –; KM462483; KM462355; –; *Afroscirpoides dioeca* (Kunth) García-Madrid; *Muasya* 2903 (BOL); South Africa; KM462290; –; KM462485; KM462357; –; *Afroscirpoides dioeca* (Kunth) García-Madrid ; *Muasya* 4614 (BOL); South Africa; KM462291; KM462220; KM462486; KM462358; –; *Afroscirpoides dioeca* (Kunth) García-Madrid; *Muasya* 5650 (BOL); South Africa; KM462289; KM462219; KM462484; KM462356; KM462431; *Afroscirpoides dioeca* (Kunth) García-Madrid; *Muasya* 3062 (BOL); South Africa; GU012394\*; –; –; GU012356\*; –; *Dracoscirpoides falsa* (C.B.Clarke) *Muasya*; *Muasya & Stirton* 3748 (BOL); South Africa; KM462306; KM462234; KM462500; KM462373; –; *Dracoscirpoides falsa* (C.B.Clarke) *Muasya*; *Muasya & Stirton* 3740 (BOL); South Africa; KM462305; KM462233; KM462499; KM462372; –; *Dracoscirpoides falsa* (C.B.Clarke) *Muasya*; *Muasya & Stirton* 3752 (BOL); South Africa; KM462307; KM462235; KM462501; KM462374; –; *Dracoscirpoides falsa* (C.B.Clarke) *Muasya*; *Muasya & Stirton* 4935 (BOL); South Africa; KM462308; KM462236; KM462502; KM462375; KM462441; *Dracoscirpoides falsa* (C.B.Clarke) *Muasya*; *Muasya & Stirton* 4948 (BOL); South Africa; KM462309; KM462238; KM462503; KM462376; KM462442; *Dracoscirpoides falsa* (C.B.Clarke) *Muasya*; *Muasya* 6792 (BOL); South Africa; KM462304; KM462232; KM462498; KM462371; KM462440; *Dracoscirpoides falsa* (C.B.Clarke) *Muasya*; *Muasya* 6688 (BOL); South Africa; KM462310; KM462237; KM462504; KM462377; KM462443; *Dracoscirpoides falsa* (C.B.Clarke) *Muasya*; *Hilliard* 13609 (GENT); South Africa; AB685859\*; –; –; EF174393\*; –; *Dracoscirpoides ficinioides* (Kunth) *Muasya*; *Muasya & Stirton* 3679 (BOL); South Africa; KM462311; –; KM462505; KM462378; KM462444; *Dracoscirpoides ficinioides* (Kunth) *Muasya*; *Muasya & Stirton* 3689 (BOL); South Africa; KM462312; –; KM462506; KM462379; –; *Dracoscirpoides ficinioides* (Kunth) *Muasya*; *Hilliard* 16095 (GENT); South Africa; AB685860\*; –; –; EF174394\*; –; *Dracoscirpoides surculosa* *Muasya*, Reynders & Goetgh.; *Muasya* 7079a (BOL); South Africa; KM462314; KM462240; KM462508; KM462381; KM462445; *Dracoscirpoides surculosa* *Muasya*, Reynders & Goetgh.; *Muasya* 7079b (BOL); South Africa; KM462315; KM462241; KM462509; KM462382; KM462446; *Erioscirus comosus* (Wall.) Palla; *Ikeda et al.* 4032 (TI); Nepal; KM462303; KM462231; KM462497;



KM462370; –, *Erioscirpus comosus* (Wall.) Palla; Ikeda et al. 2102010 (TI); Nepal; AB643641\*; –, AB643652\*; –, –, *Erioscirpus comosus* (Wall.) Palla; Ikeda et al. 21814007 (TI); Nepal; AB643639\*; –, AB643650\*; –, –, *Erioscirpus comosus* (Wall.) Palla; J. Jung 1007130 (AJOU); China; JX644876\*; –, JX644795\*; –, –, *Erioscirpus comosus* (Wall.) Palla; Khin Myo Htwe 024172 (TI); Myanmar; AB643642\*; –, AB643653\*; –, –, *Erioscirpus microstachyus* (Boeck.) Palla; Noltie 2001562 (E); India; AB643643\*; –, AB643654\*; –, –, *Ficinia cinnamomea* C.B.Clarke; Grimshaw 93939 (K); Tanzania; –, –, AJ295770\*; –, –, *Ficinia gracilis* Schrad.; Muasya 2742 (BOL); South Africa; KM462328; –, KM462522; –, –, *Ficinia gracilis* Schrad.; Faden et al. 96/433 (K); Tanzania; AB685862\*; –, EF178534\*; –, –, *Ficinia gracilis* Schrad.; Muasya 2355 (BOL); South Africa; –, –, EF178595\*; –, –, *Ficinia gracilis* Schrad.; Muasya 2713 (BOL); South Africa; –, HQ705902\*; –, –, HQ705784\*; *Ficinia indica* (Lam.) H.Pfeiff.; Muasya 2318 (BOL); South Africa; GU012402\*; KM462253; EF178597\*; GU012363\*; –, *Ficinia aff. nodosa*; Muasya 6424 (BOL); South Africa; KM462316; KM462242; KM462512; KM462385; KM462449; *Ficinia nodosa* (Rottb.) Goetgh., Muasya & D.A.Simpson; Muasya & García-Madrid 7034 (BOL); South Africa; KM462322; KM462248; KM462518; KM462389; KM462455; *Ficinia nodosa* (Rottb.) Goetgh., Muasya & D.A.Simpson; Muasya 3299 (BOL); South Africa; KM462317; KM462243; KM462513; KM462386; KM462450; *Ficinia nodosa* (Rottb.) Goetgh., Muasya & D.A.Simpson; Muasya 3806 (BOL); South Africa; KM462318; KM462244; KM462514; –, KM462451; *Ficinia nodosa* (Rottb.) Goetgh., Muasya & D.A.Simpson; Muasya 4522 (BOL); South Africa; KM462319; KM462245; KM462515; –, KM462452; *Ficinia nodosa* (Rottb.) Goetgh., Muasya & D.A.Simpson; Muasya 5324 (BOL); South Africa; KM462320; KM462246; KM462516; KM462387; KM462453; *Ficinia nodosa* (Rottb.) Goetgh., Muasya & D.A.Simpson; Muasya 5652 (BOL); South Africa; KM462321; KM462247; KM462517; KM462388; KM462454; *Ficinia overbergensis* Muasya & C.H.Stirt.; Muasya & García-Madrid SA11 (BOL); South Africa; KM462329; KM462252; KM462523; KM462393; KM462457; *Ficinia paradoxa* (Schrad.) Nees; Verboom 534 (BOL); South Africa; KF553447\*; KF553555\*; DQ058317\*; –, –, *Ficinia pinguior* C.B.Clarke; Muasya 1183 (K); South Africa; GU012407\*; –, AJ295772\*; GU012368\*; –, *Ficinia spiralis* (A.Rich.) Muasya & de Lange; Ford 44/94 (NU); New Zealand; –, –, AJ295753\*; –, –, *Ficinia spiralis* (A.Rich.) Muasya & de Lange; HBUG 0699 (GENT); New Zealand; GU012395\*; –, –, GU012357\*; –, *Ficinia trichodes* (Schrad.) Benth. & Hook.f.; Muasya 2328 (K); South Africa; AB685864\*; –, EF178603\*; KM462394; –, *Ficinia sp. A*; Muasya 2714 (BOL); South Africa; KM462325; KM462249; KM462519; KM462390; –, *Ficinia sp. B*; Muasya & García-Madrid SA12 (BOL);

South Africa; KM462326; KM462250; KM462520; KM462391; –; *Ficinia* sp. C; *Muasya* & *García-Madrid* 7040 (BOL); South Africa; KM462327; KM462251; KM462521; KM462392; KM462456; *Hellmuthia membranacea* (Thunb.) R.W.Haines & Lye; *Muasya* 4527 (BOL); South Africa; KM462323; KM462259; KM462510; KM462383; KM462447; *Hellmuthia membranacea* (Thunb.) R.W.Haines & Lye; *Muasya* 5319 (BOL); South Africa; KM462324; KM462260; KM462511; KM462384; KM462448; *Hellmuthia membranacea* (Thunb.) R.W.Haines & Lye; *Muasya* 1145 (K); South Africa; –; –; –; EF174389\*; –; *Hellmuthia membranacea* (Thunb.) R.W.Haines & Lye; *Muasya* 3081 (BOL); South Africa; GU012384\*; JX566730\*; –; GU012347\*; –; *Hellmuthia membranacea* (Thunb.) R.W.Haines & Lye; *Wedermann et al.* 269 (K); South Africa; –; –; AJ295815\*; –; –; *Isolepis costata* A.Rich.; *Muasya* 1049 (EA,K); Kenya; –; –; AJ295776\*; –; –; *Isolepis costata* A.Rich.; *Muasya* 1109 (EA,K); Kenya; GU012414\*; KM462255; KM462526; GU012375\*; –; *Isolepis digitata* Nees ex. Schrad.; *Muasya* 1230 (K); South Africa; GU012415\*; –; AJ295779\*; GU012376\*; –; *Isolepis fluitans* (L.) R.Br.; AK289724 (Gardner et al.); New Zealand; DQ385579\*; –; –; –; –; *Isolepis fluitans* (L.) R.Br.; *Muasya* & *Knox* 3195 (EA); Kenya; –; HQ705901\*; –; –; HQ705783\*; *Isolepis fluitans* (L.) R.Br.; *Muasya* 1007 (K); Kenya; GU012416\*; KM462254; KM462525; GU012377\*; –; *Isolepis fluitans* (L.) R.Br.; *Muasya* 1057 (K); Kenya; –; –; AJ295780\*; EF174390\*; –; *Isolepis fluitans* var. *lenticularis* (R.Br.) *Muasya*; AK289561 (Gardner et al.); New Zealand; DQ385580\*; –; –; –; –; *Isolepis hemiuncialis* (C.B.Clark) J.Raynal; *Muasya* & *García-Madrid* 7042 (BOL); South Africa; KM462331; –; –; KM462395; –; *Isolepis hemiuncialis* (C.B.Clark) J.Raynal; *Muasya* 2895 (BOL); South Africa; GU012387\*; –; –; GU012350\*; –; *Isolepis incomtula* Nees; *Muasya* & *García-Madrid* 7035 (BOL); South Africa; –; KM462261; KM462524; –; KM462458; *Isolepis incomtula* Nees; *Muasya* 2897 (BOL); South Africa; KM462330; –; –; KM462399; –; *Isolepis incomtula* Nees; *Muasya* 3017 (BOL); South Africa; GU012389\*; –; –; GU012351\*; –; *Isolepis leucoloma* (Nees) C.Archer; *Muasya* 2976 (BOL); South Africa; GU012417\*; KM462257; KM462528; GU012378\*; –; *Isolepis marginata* (Thunb.) A.Dietr.; *Muasya* & *García-Madrid* 7038 (BOL); South Africa; KM462332; –; –; KM462396; –; *Isolepis marginata* (Thunb.) A.Dietr.; *Coveny et al.* 17452 (K); Australia; –; JX566731\*; AJ295790\*; EF174391\*; –; *Isolepis marginata* (Thunb.) A.Dietr.; *Muasya* 2973 (BOL); South Africa; GU012418\*; –; –; –; –; *Isolepis prolifera* (Rottb.) R.Br.; AK288281 (Gardner et al.); New Zealand; DQ385584\*; –; –; –; –; *Isolepis prolifera* (Rottb.) R.Br.; *Coveny et al.* 17487 (K); Australia; KM462333; KM462256; AJ295796\*; KM462397; –; *Isolepis prolifera* (Rottb.) R.Br.; *Muasya* 1168 (K); South Africa; GU012419\*; –; –; GU012379\*; –; *Isolepis rubicunda* (Nees) Kunth; *Muasya* 1154 (BOL);

South Africa; KM462334; KM462258; KM462527; KM462398; –, *Isolepis rubicunda* (Nees) Kunth; *Muasya* 1165 (K); South Africa; GU012420\*; –, GU012380\*; –, *Isolepis rubicunda* (Nees) Kunth; *Muasya* 1221 (K); South Africa; –, AJ295797\*; –, *Isolepis setacea* (L.) R.Br.; *Faden et al.* 96/417 (K); Tanzania; GU012392\*; –, KM462529; GU012354\*; –, *Isolepis venustula* Kunth; *Muasya* 1189 (K); South Africa; GU012421\*; –, AJ295804\*; GU012381\*; –, *Scirpoides burkei* (C.B.Clarke) Goetgh., *Muasya* & D.A.Simpson; *Muasya* & Stirton 3762 (BOL); South Africa; KM462294; KM462223; KM462489; KM462362; –, *Scirpoides burkei* (C.B.Clarke) Goetgh., *Muasya* & D.A.Simpson; *Muasya* 43mL10 (BOL); South Africa; KM462295; KM462224; KM462490; KM462363; KM462439; *Scirpoides globifera* (L.f.) Soják; *García-Madrid & Molina* MAR7-SCI15 (MAF); Morocco; KM462267; KM462203; KM462476; KM462335; KM462414; *Scirpoides globifera* (L.f.) Soják; *García-Madrid & Molina* TEN1-SCI3 (MAF); Spain; KM462270; KM462206; KM462479; KM462338; KM462417; *Scirpoides globifera* (L.f.) Soják; *García-Madrid & Molina* TEN1-SCI8 (MAF); Spain; KM462268; KM462204; KM462477; KM462336; KM462415; *Scirpoides globifera* (L.f.) Soják; *García-Madrid & Molina* TEN1-SCI10 (MAF); Spain; KM462269; KM462205; KM462478; KM462337; KM462416; *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják; *García-Madrid et al.* 172412 (MAF) ; Spain; KM462284; KM462217; KM462481; KM462354; KM462430; *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják; *García-Madrid & Molina* ARA2-SCI5 (MAF); Spain; KM462282; KM462214; KM462466; KM462350; KM462424; *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják; *García-Madrid & Cantó* BET4-SCI12 (MAF); Spain; KM462279; KM462211; KM462463; KM462347; KM462421; *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják; *García-Madrid & Molina* BET9-SCI6 (MAF); Spain; KM462280; KM462212; KM462464; KM462348; KM462422; *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják; *García-Madrid & Cantó* CAS1-SCI8 (MAF); Spain; –, KM462208; KM462461; KM462345; –, *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják; *García-Madrid & Cantó* CAS1-SCI11 (MAF); Spain; –, KM462216; KM462480; KM462353; –, *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják; *García-Madrid & Cantó* EX1-SCI14 (MAF); Spain; KM462281; KM462213; KM462465; KM462349; KM462423; *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják; *García-Madrid & Molina* LEO1-SCI13 (MAF); Spain; KM462278; KM462210; KM462462; KM462346; KM462420; *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják; *García-Madrid & Nicolás* MAD1-SCI2 (MAF); Spain; KM462283; KM462215; KM462467; KM462351; KM462425; *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják; *García-Madrid & Nicolás* MAD2-SCI19 (MAF); Spain; KM462277; KM462209; KM462460; KM462344; KM462419; *Scirpoides holoschoenus* subsp.

*holoschoenus* (L.) Soják; *HBUG 2003-1536* (GENT); Belgium; –; –; KM462468; KM462352; –; *Scirpoides holoschoenus subsp. holoschoenus* (L.) Soják; *Goetghebeur 11520* (GENT); BG Porto, BG Ghent; –; –; –; –; HQ705782\*; *Scirpoides holoschoenus subsp. holoschoenus* (L.) Soják; *Kirin et al. 76508* (UTV); Italy; –; –; –; –; KC584972\*; *Scirpoides holoschoenus subsp. holoschoenus* (L.) Soják; *Parnell s.n.* (TCD); Europe; –; –; AY344176\*; AY344153\*; –; *Scirpoides holoschoenus subsp. australis* (L.) Soják; *García-Madrid & Molina DON1-SCI2* (MAF); Spain; KM462274; KM462200; KM462473; KM462341; KM462427; *Scirpoides holoschoenus subsp. australis* (L.) Soják; *García-Madrid & Molina GAL1-SCI23* (MAF); Spain; KM462275; KM462201; KM462474; KM462342; KM462428; *Scirpoides holoschoenus subsp. australis* (L.) Soják; *García-Madrid & Molina MAR7-SCI13* (MAF); Morocco; KM462273; KM462199; KM462471; KM462339; KM462418; *Scirpoides holoschoenus subsp. australis* (L.) Soják; *García-Madrid & Molina MAR7-SCI3* (MAF); Morocco; KM462271; KM462207; KM462472; KM462340; KM462426; *Scirpoides holoschoenus subsp. australis* (L.) Soják; *García-Madrid et al. 172411* (MAF); Spain; KM462276; KM462202; KM462475; KM462343; KM462429; *Scirpoides holoschoenus subsp. australis* (L.) Soják; *J. Lamond 4607* (H); Iran; KM462272; –; KM462469; –; –; *Scirpoides holoschoenus subsp. australis* (L.) Soják; *Kämäräinen Ky119* (H); Cyprus; –; KM462198; KM462470; –; –; *Scirpoides holoschoenus subsp. australis* (L.) Soják; *Kukkonen 8371* (H); Turkey; –; –; KM462459; –; –; *Scirpoides thunbergii* (Schrad.) Soják; *Muasya & García-Madrid SA21* (BOL); South Africa; KM462301; KM462229; KM462495; KM462368; KM462437; *Scirpoides thunbergii* (Schrad.) Soják; *Muasya & García-Madrid SA44* (BOL); South Africa; KM462302; KM462230; KM462496; KM462369; KM462438; *Scirpoides thunbergii* (Schrad.) Soják; *Muasya 2278* (BOL); South Africa; KM462300; –; –; –; –; *Scirpoides thunbergii* (Schrad.) Soják; *Muasya 3896a* (BOL); South Africa; KM462297; KM462226; KM462492; KM462365; KM462434; *Scirpoides thunbergii* (Schrad.) Soják; *Muasya 3896b* (BOL); South Africa; KM462298; KM462227; KM462493; KM462366; KM462435; *Scirpoides thunbergii* (Schrad.) Soják; *Muasya 4569* (BOL); South Africa; KM462296; KM462225; KM462491; KM462364; –; *Scirpoides thunbergii* (Schrad.) Soják; *Muasya 6241* (BOL); South Africa; KM462299; KM462228; KM462494; KM462367; KM462436; *Scirpoides varia* Browning; *Acocks 21025* (PRE); South Africa; KM462287; –; –; –; –; *Scirpoides varia* Browning; *Haines 7045* (PRE); South Africa; KM462286; KM462218; KM462482; KM462361; –; *Scirpoides varia* Browning; *Hattingh 110* (PRE); South Africa; KM462285; –; –; –; –; *Scirpoides varia* Browning; *Swelankomo 222A* (PRE); South Africa; KC677968\*; –; KC677996\*; –; –.



*Fuirena hirsuta*  
*Fuirena pubescens*

*Fuireneae*

*Cypereae:*  
*Cyperus* clade

*Cypereae:*  
*Ficinia* clade

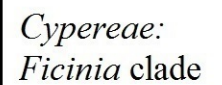
0.2





- *Fuirena hirsuta*
- *Fuirena pubescens*

*Cypereae:*  
*Cyperus* clade



143



Appendix 4

*Fuirena hirsuta*  
*Fuirena pubescens*  
\*\*\* *Schoenoplectus corymbosus*  
    *Isolepis humillima*  
    *Pseudoschoenus inanis*

*Fuireneae*

*Cypereae:*  
*Cyperus* clade

*Cypereae:*  
*Ficinia* clade

\*\*\* *Cyperus flavescens*  
    *Cyperus mundii*  
    *Cyperus mindorensis*  
    *Cyperus longus*  
    *Cyperus papyrus*  
    *Cyperus cyperoides*  
-/\* *Cyperus persquarrosus*  
\*\*\* *Cyperus ascocapensis*  
    *Cyperus cuspidatus*  
    *Cyperus kyllingiella*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis* (Kukonen 8371)  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis*  
\*\*\* *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis*  
    *Scirpoides globifera*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*  
-/\* *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis* (J.Lamond 4607)  
\*\*\* *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis* (Kämäräinen Ky119)  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*  
    *Scirpoides globifera*  
    *Scirpoides globifera*  
    *Scirpoides globifera*  
    *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*  
    *Scirpoides burkei*  
\* *Scirpoides burkei*  
\*\*\* *Scirpoides thunbergii*  
    *Scirpoides thunbergii*  
    *Scirpoides thunbergii*  
\*\*\* *Scirpoides thunbergii*  
    *Scirpoides thunbergii*  
    *Scirpoides varia*  
    *Scirpoides varia*  
    *Afroscirpoides dioeca*  
-/\* *Afroscirpoides dioeca*  
    *Afroscirpoides dioeca*  
\*\*\* *Afroscirpoides dioeca*  
    *Afroscirpoides dioeca*  
    *Afroscirpoides dioeca*  
    *Erioscirpus comosus*  
    *Erioscirpus comosus*  
-/\* *Erioscirpus comosus*  
    *Erioscirpus comosus*  
    *Erioscirpus comosus*  
    *Erioscirpus microstachyus*  
    *Dracoscirpoides falsa*  
    *Dracoscirpoides falsa*  
    *Dracoscirpoides falsa*  
-/\* *Dracoscirpoides falsa*  
    *Dracoscirpoides falsa*  
    *Dracoscirpoides falsa*  
    *Dracoscirpoides falsa*  
    *Dracoscirpoides falsa*  
    *Dracoscirpoides ficinioides*  
    *Dracoscirpoides ficinioides*  
    *Dracoscirpoides surculosa*  
    *Dracoscirpoides surculosa*  
    *Hellmuthia membranacea*  
\*\*\* *Hellmuthia membranacea*  
    *Hellmuthia membranacea*  
    *Ficinia gracilis*  
    *Ficinia gracilis*  
    *Ficinia gracilis*  
    *Ficinia cinnamomea*  
    *Ficinia sp. B*  
    *Ficinia aff. nodosa*  
    *Ficinia nodosa*  
    *Ficinia nodosa*  
\*\*\* *Ficinia nodosa*  
    *Ficinia nodosa*  
    *Ficinia nodosa*  
    *Ficinia nodosa*  
    *Ficinia nodosa*  
    *Ficinia sp. C*  
    *Ficinia indica*  
    *Ficinia trichodes*  
    *Ficinia spiralis*  
    *Ficinia paradoxa*  
    *Ficinia pinguior*  
    *Ficinia overbergensis*  
    *Ficinia sp. A*  
-/\* *Isolepis incomtula*  
    *Isolepis marginata*  
    *Isolepis leuocoloma*  
\*\*\* *Isolepis fluitans*  
    *Isolepis fluitans*  
    *Isolepis costata*  
-/\* *Isolepis costata*  
-/\* *Isolepis prolifera*  
    *Isolepis digitata*  
-/\* *Isolepis venustula*  
    *Isolepis setacea*  
    *Isolepis rubicunda*  
144 *Isolepis rubicunda*

0.5



# Appendix 5

*Pseudoschoenus inanis*  
*Schoenoplectus corymbosus*

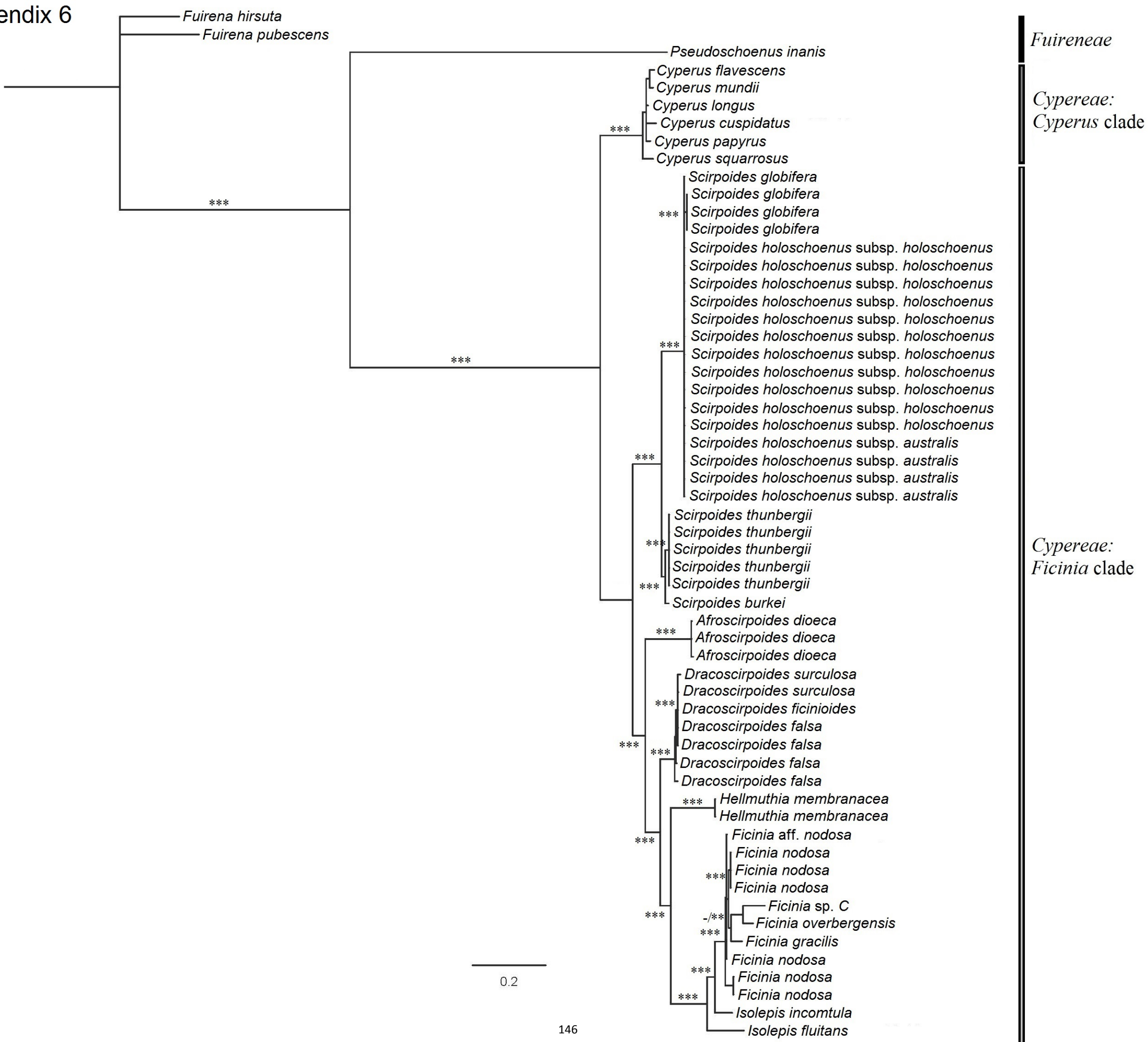
Fuireneae

Cypereae:  
 Cyperus clade

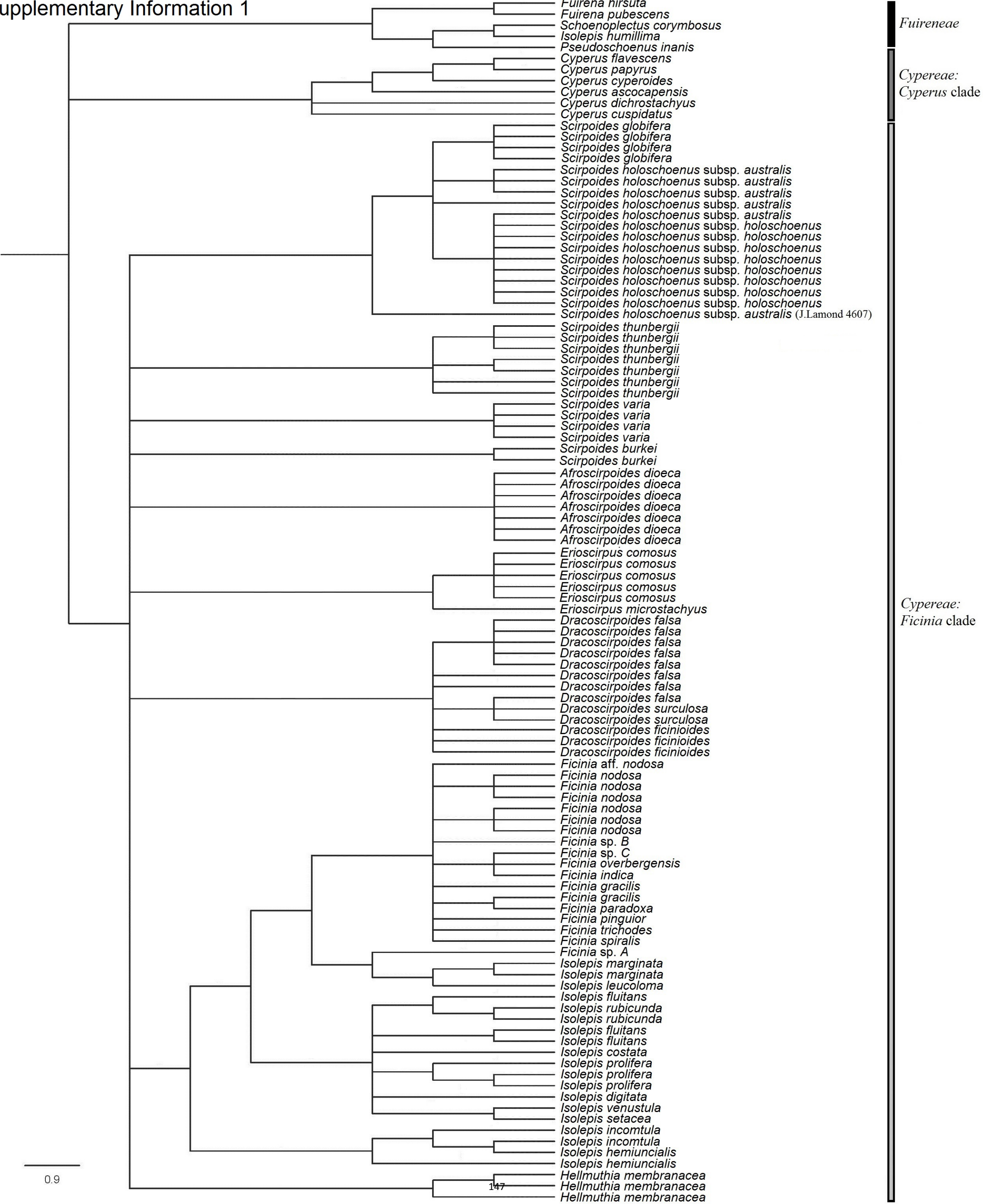
Cypereae:  
 Ficinia clade



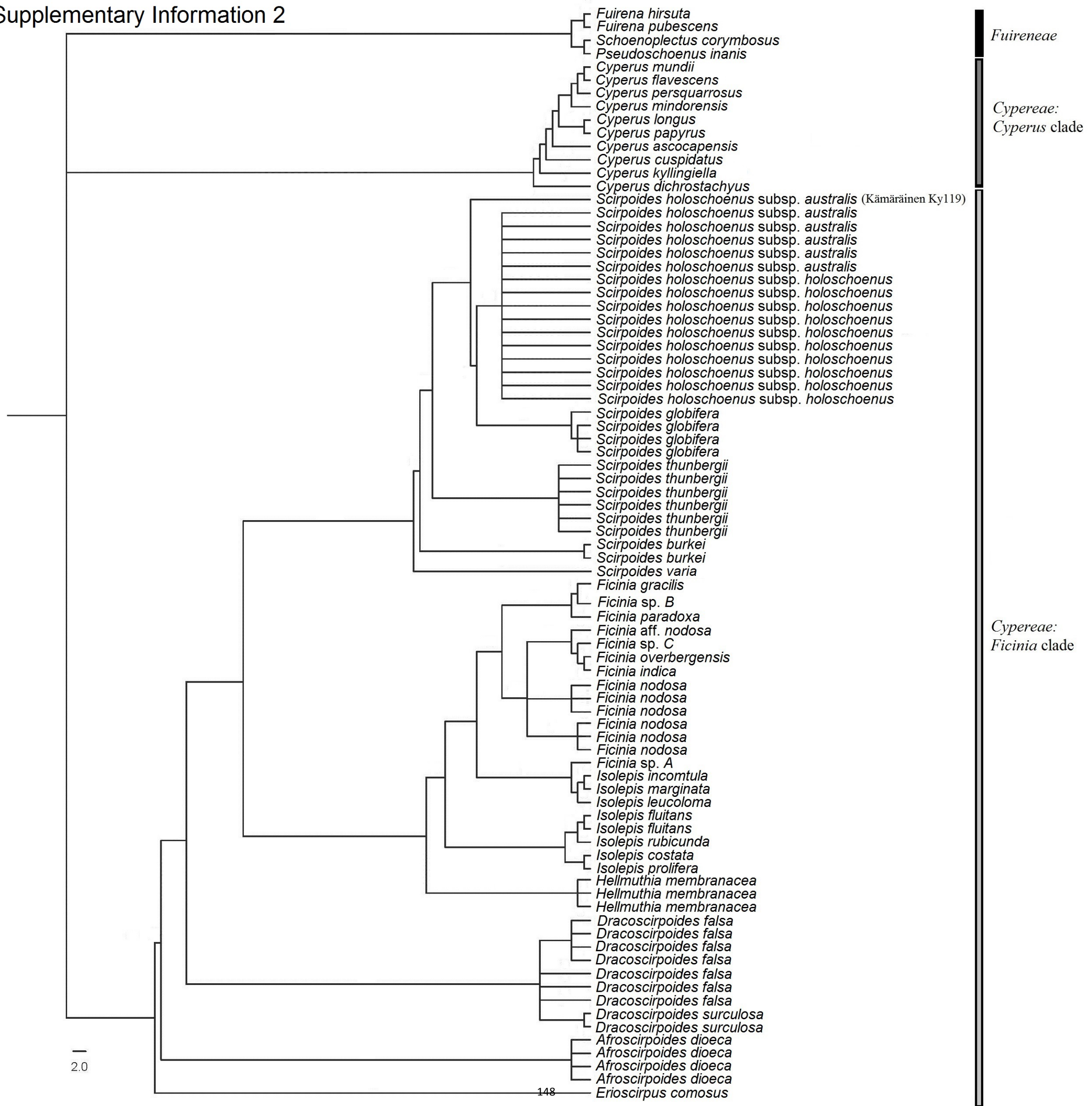
0.3



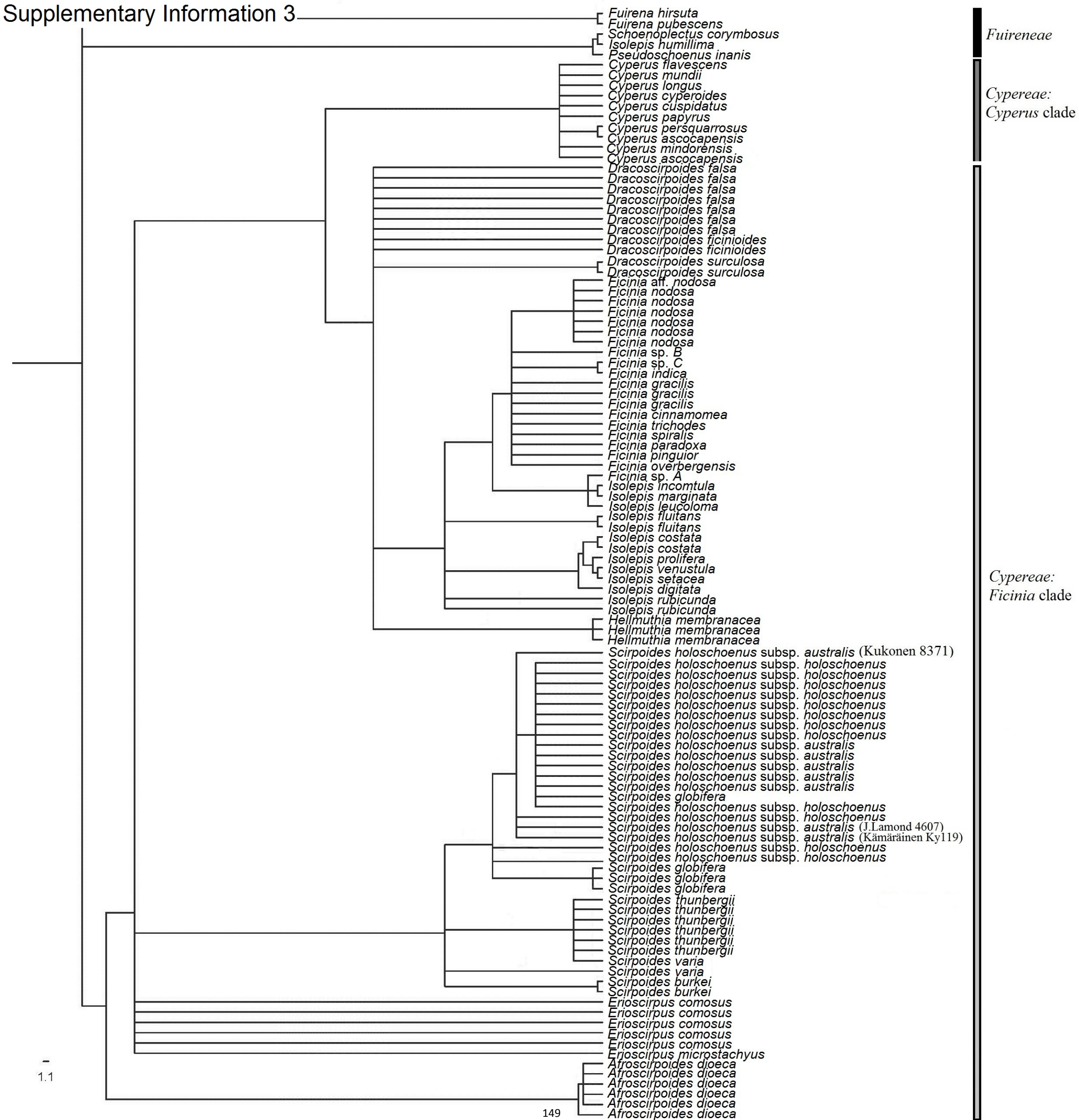




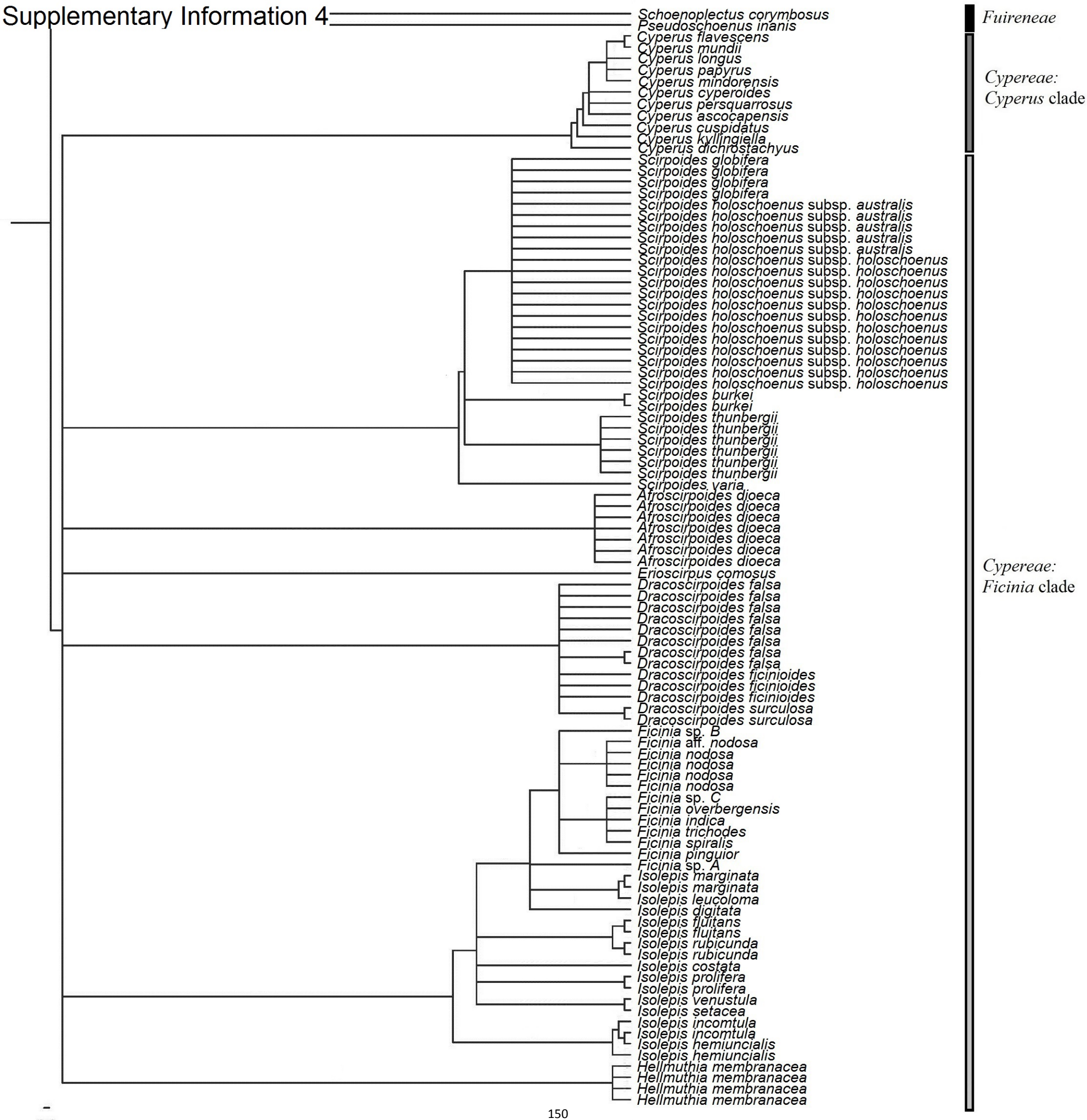






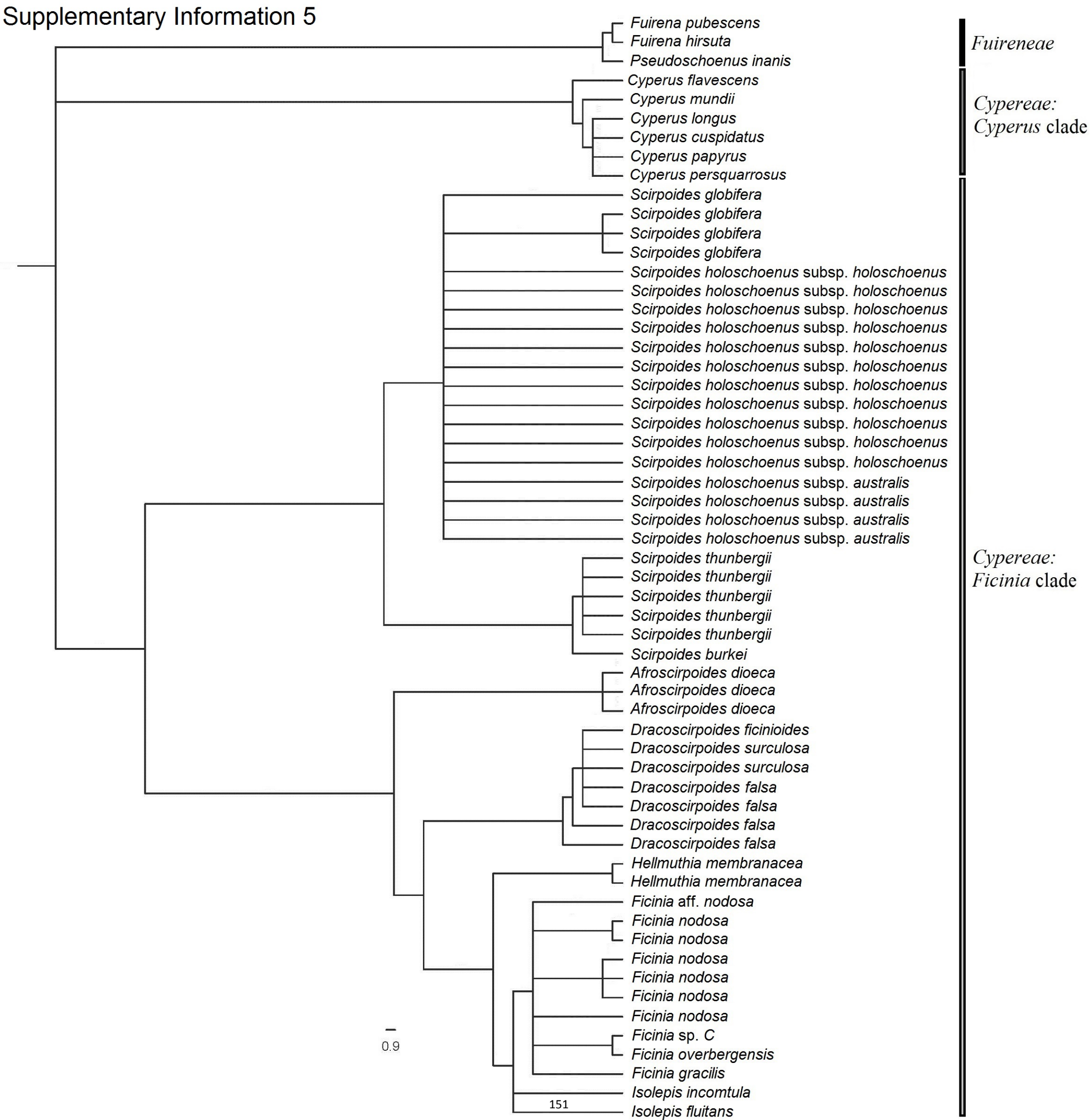


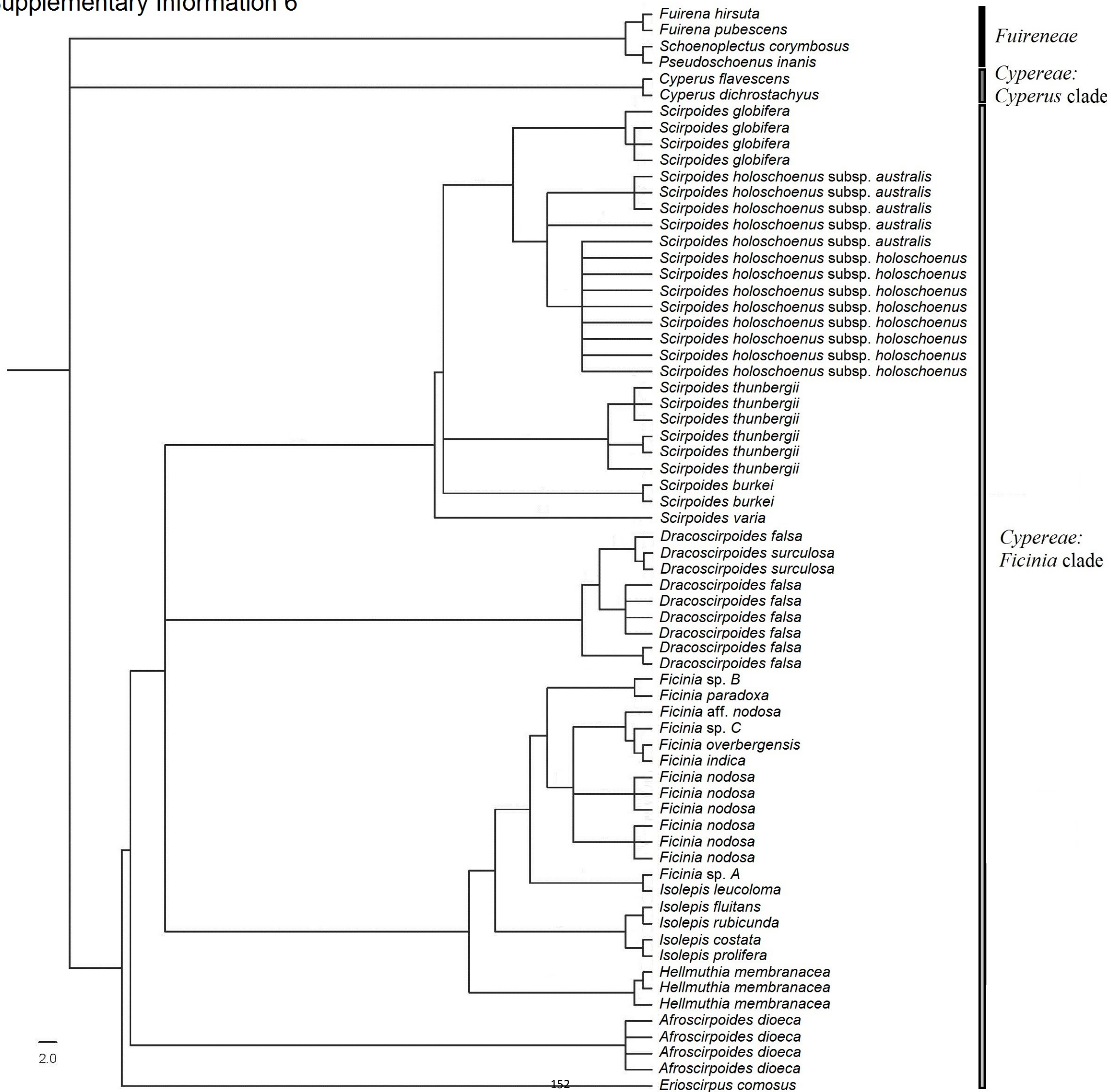






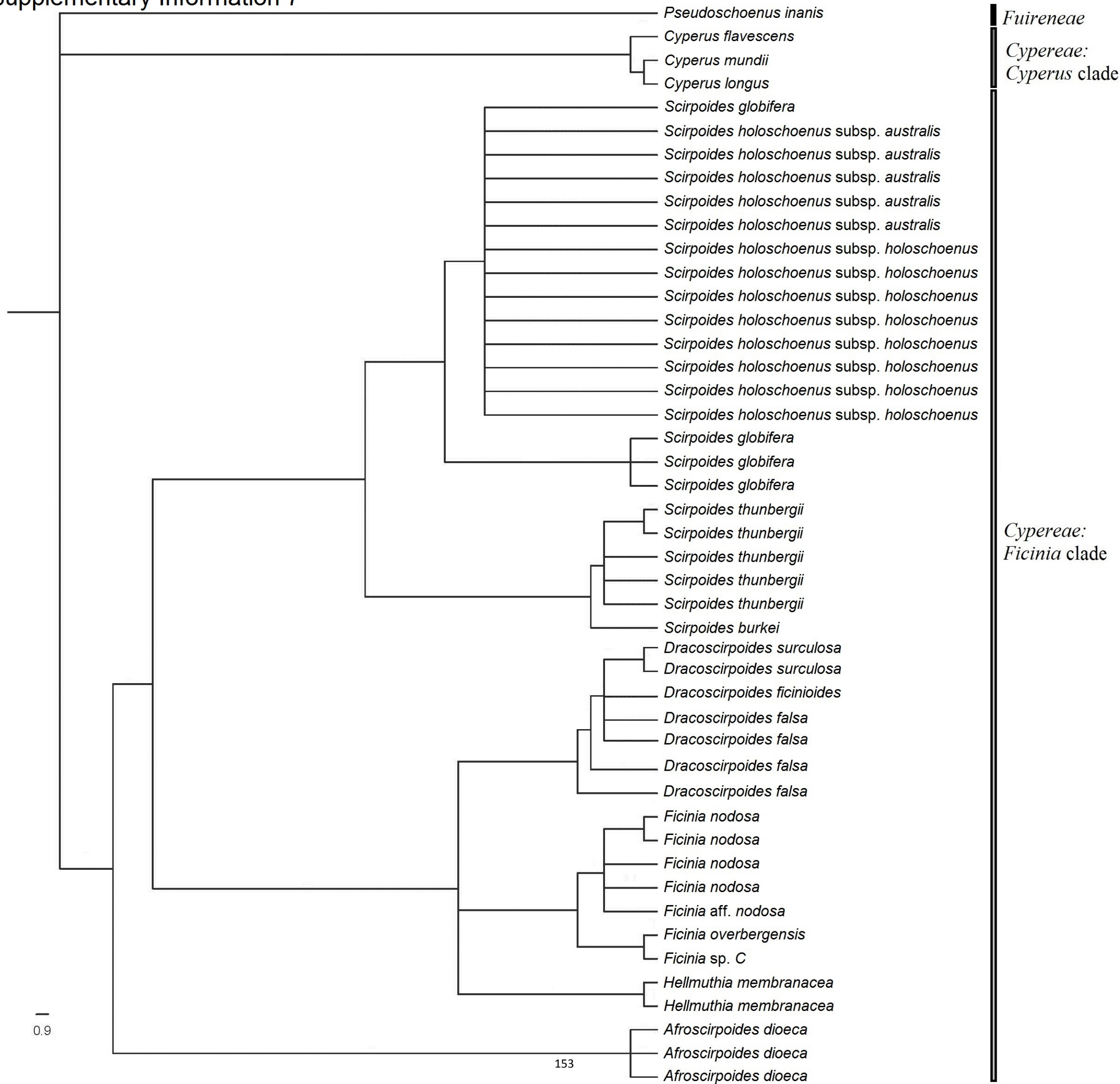
# Supplementary Information 5



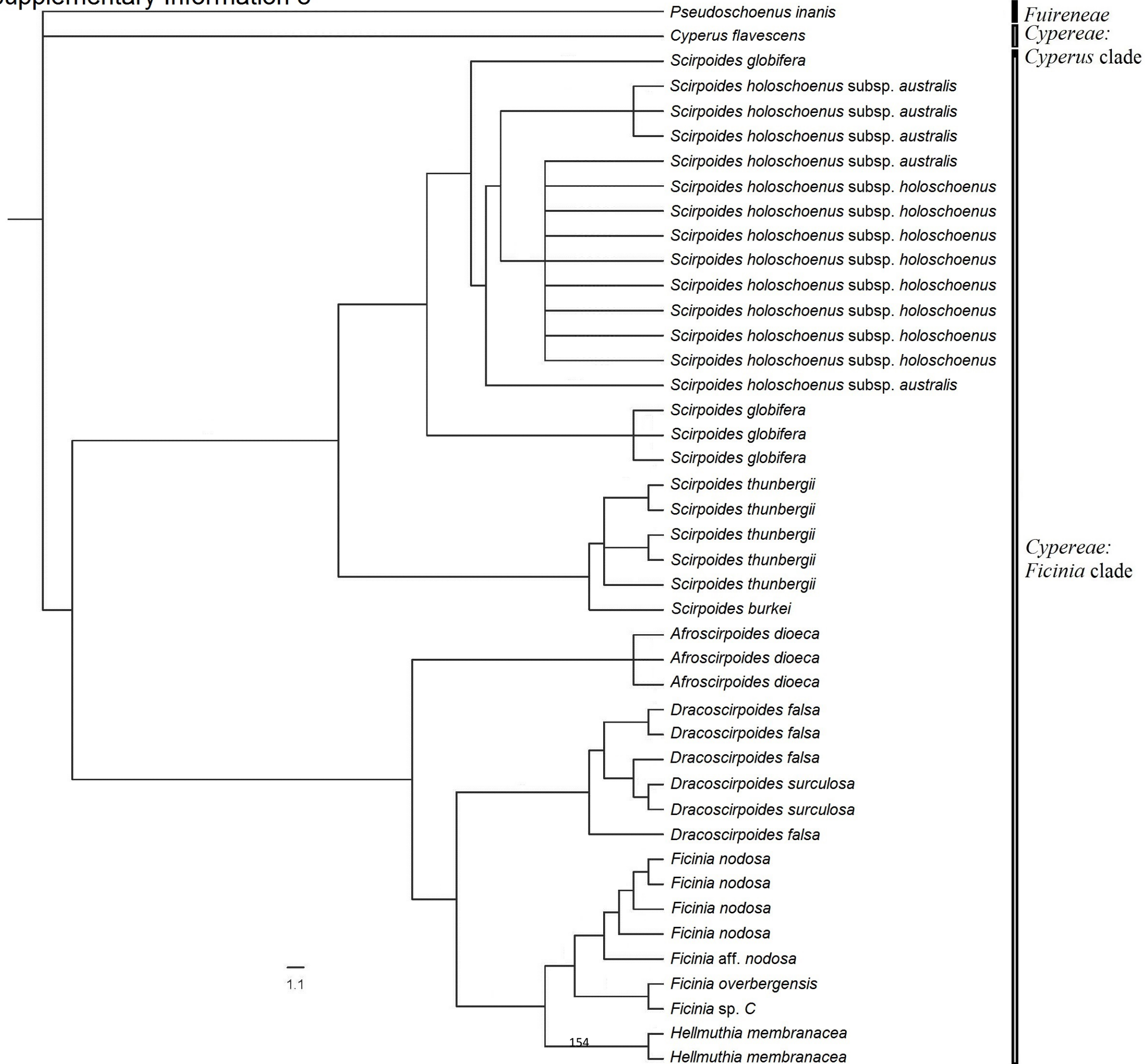




# Supplementary Information 7



# Supplementary Information 8





A photograph of a rural landscape. In the foreground, there is a field of tall, dry, golden-brown grass. Behind it, a vibrant green field slopes upwards. In the middle ground, a small white house with a red roof is visible, partially obscured by trees. The background consists of a hillside covered in sparse green shrubs and trees under a clear sky.

## DISCUSIÓN INTEGRADORA

## GENERAL DISCUSSION



Fotografía: Orusco de Tajuña (Madrid).

Ana I. Sánchez García-Madrid



## *Delimitación de los taxones del género Scirpoides*

Las especies del género *Scirpoides*, al igual que ocurre con todos los géneros pertenecientes al clado *Ficinia sensu* Muasya et al. (2009b), tienen una larga historia de clasificaciones incorrectas. Hasta el momento, ningún estudio previo ha incluido todas las especies con afinidad morfológica reconocidas tradicionalmente en alguno de los géneros del clado *Ficinia* con el fin de establecer los límites existentes entre géneros próximos. Únicamente, las clasificaciones de Bruhl (1995) y Goetghebeur (1998) estudian los límites genéricos a nivel de la familia Cyperaceae. Ambos autores (Bruhl, 1995; Goetghebeur, 1998) reconocen el género *Scirpoides* pero con reservas, dada la necesidad de un estudio más profundo de sus límites y las especies que incluye. Dentro del género, ambos autores (Bruhl, 1995; Goetghebeur 1998) también reconocen la combinación *Scirpoides holoschoenus* y emplean esta especie para ayudarse en la ejemplificación de las características del género pero, sin embargo, ninguno de los dos estudia otras especies como *S. thunbergii* ni *S. dioeca*, aunque Goetghebeur (1998) se refiere a esta última especie bajo el nombre de *Isolepis dioici* Kunth, como posiblemente relacionada con *S. holoschoenus*.

En esta Tesis se han considerado todos los taxones incluidos en *Scirpoides* por la clasificación más reciente del género (WCSP, 2014) así como por la clasificación más completa a nivel Europeo —Soják, 1972a,b— (*S. holoschoenus*, *S. burkei*, *S. dioeca*, *S. varia*, *S. nodosus* y *S. romana*) así como todas las subespecies de *S. holoschoenus* reconocidas por dichas clasificaciones (subsp. *holoschoenus*, subsp. *thunbergii*, subsp. *globifera* y subsp. *australis*). Los resultados de nuestro estudio filogenético (Capítulo 4) muestran un total de cinco especies en *Scirpoides*: *S. holoschoenus*, *S. globifera*, *S. thunbergii*, *S. varia* y *S. burkei*. Dichas especies se dividen en dos grupos que se distribuyen el primero en el sur de África (*S. thunbergii*, *S. varia* y *S. burkei*) y el segundo en el norte de África y la cuenca del Mediterráneo (*S. holoschoenus* y *S. globifera*). En contraste con las clasificaciones mencionadas (Soják, 1972a,b; WCSP, 2014), nuestros datos elevan a la categoría de especie a *S. globifera* y *S. thunbergii*.

En el caso de *S. globifera*, esta especie se distribuye únicamente en las Islas Canarias y el norte de Marruecos, donde puede considerarse vicariante de *S. holoschoenus*, dado que ambas especies se encuentran en el mismo hábitat (prados húmedos de hierbas altas de *Molinio-Holoschoenion*, Capítulos 1, 2 y 3). El norte de



Marruecos representa la única zona donde hemos encontrado poblaciones en las que ambas especies (*S. globifera* y *S. holoschoenus*) coexisten (pers. obs.). Morfológicamente, *S. globifera* se caracteriza por tener inflorescencias compuestas, con hasta 200 glomérulos de pequeño tamaño, mientras que el *S. holoschoenus* típico suele tener un máximo de 25 glomérulos de mayor tamaño (Maire, 1957). Por otro lado, en *S. globifera*, las brácteas involucrales son siempre más cortas que la inflorescencia y curvadas mientras que en *S. holoschoenus* son erectas y a veces tan largas como la inflorescencia. Nuestros resultados moleculares (Capítulo 4) muestran que las muestras de *S. globifera* forman un clado próximo al clado formado por las muestras del complejo *S. holoschoenus* (*S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*, *S. holoschoenus* subsp. *australis* y *S. romana*). Cabe destacar que hubo una muestra de *S. globifera* procedente del norte de Marruecos (García-Madrid & Molina MAR7-SCI15) que en dicho estudio (Capítulo 4) mostró mayor proximidad hacia *S. holoschoenus* que hacia *S. globifera*. Este último hecho sugiere la posible existencia de individuos híbridos en el norte de África, lo que debería ser analizado con mayor profundidad en próximos estudios.

En el caso de *S. thunbergii*, nuestros resultados moleculares (Capítulo 4) muestran una mayor proximidad de esta especie hacia las especies de *Scirpoides* presentes en el sur de África (*S. varia* y *S. burkei*) que hacia *S. holoschoenus*, del cual se ha considerado hasta la actualidad como subespecie (Soják, 1972b; WCSP, 2014). Aunque las diferencias morfológicas entre *S. thunbergii* y *S. holoschoenus* son menos acusadas que en *S. globifera*, autores como Browning & Gordon Gray (1994) apoyan su tratamiento a nivel específico. En vista de la distancia genética existente entre *S. thunbergii* y *S. holoschoenus* así como del área de distribución de ambos taxones, apoyamos a Browning & Gordon Gray (1994) en el tratamiento a nivel específico de *S. thunbergii*.

Respecto a las especies de *Scirpoides* distribuidas en el sur de África (*S. varia* y *S. burkei*) cabe destacar que mientras que la posición taxonómica de *S. burkei* ha sido estable desde su transferencia de *Scirpus* a *Scirpoides* (Muasya et al., 2000), *S. varia* ha sido incluido en la tribu Fuireneae en algunos estudios (Muasya et al., 1998, 2009b). Nuestros resultados moleculares (Capítulo 4) sitúan *S. varia* dentro del clado *Ficinia*, en el mismo clado que todos los taxones congenéricos estudiados. Por tanto, nuestros resultados apoyan la transferencia de *Scirpus* a *Scirpoides* propuesta por



Browning & Gordon Gray (2011) para *S. varia* y apoyada molecularmente también por Shiels et al. (2014).

La última especie incluida en *Scirpoides* por WCSP (2014), *S. dioeca*, fue descrita por Kunth (1837), situándola en el género *Isolepis*. Basándose en datos morfológicos, Browning (1989) transfirió esta especie primero a *Scirpus* y posteriormente a *Scirpoides* (Browning & Gordon Gray, 1994). Únicamente existe un estudio molecular que incluye un individuo de este taxon junto con otra muestra de *S. thunbergii* (Yano et al., 2012). En dicho estudio ambas especies no están claramente relacionadas ya que forman dos clados diferentes al mismo nivel que los clados de *Erioscirus* y *Ficinia-Isolepis-Hellmuthia*. Nuestros datos moleculares (Capítulo 4) muestran *S. dioeca* en un clado monofilético claramente diferenciado del formado por las otras especies de *Scirpoides* y con un soporte alto en todos los análisis. Morfológicamente, esta especie muestra afinidad con las especies de *Scirpoides* s.str. pero, a la vez, tiene caracteres únicos como, por ejemplo, las glumas agudas con mucrón subapical o la bráctea inferior punzante que siempre sobrepasa la inflorescencia. En base a eso, proponemos un género nuevo (*Afroscirpoides* García-Madrid & Muasya) para incluir esta especie (*Afroscirpoides dioeca* (Kunth) García-Madrid).

Soják (1972a,b) incluye en *Scirpoides* otras dos especies: *S. nodosus* y *S. romana*. En el caso de *S. nodosus*, Muasya et al. (2000) combinó dicho taxon como *Ficinia nodosa* (Rottb.) Goetgh., Muasya & D.A.Simpson, basándose en la presencia de ginóforo, un carácter sinapomórfico compartido por todas las especies de *Ficinia*, excepto *F. filiformis* (Lam.) Schrad que muestra una pérdida secundaria del ginóforo (Muasya & De Lange, 2010). En nuestro estudio (Capítulo 4) *F. nodosa* aparece con elevado soporte junto con el resto de especies de *Ficinia* incluidas, apoyando la combinación propuesta por Muasya et al. (2000). Esta especie (*F. nodosa*) mostró una elevada variabilidad infraespecífica en todos los análisis. Aunque Soják (1972a) reconoce *S. romana* a nivel específico, muchos autores consideran esta especie como sinónimo de *S. holoschoenus* (e.g. Pignotti, 2003; Castroviejo et al., 2008). Morfológicamente, *S. romana* se caracteriza por presentar un único glomérulo sésil de espiguillas (Pignotti, 2003). En nuestro estudio filogenético (Capítulo 4) se incluyeron dos muestras que correspondían a la descripción de Soják (1972a) de *S. romana* (García-Madrid & Cantó CAS1-SCI11 y García-Madrid et al. 172412) pero no se encontraron diferencias moleculares entre dichas muestras y el *S. holoschoenus* típico.



Por tanto, consideramos que *S. romana* es sólo una expresión de la variabilidad morfológica que puede alcanzar *S. holoschoenus* en condiciones ecológicas extremas.

### *El complejo Scirpoides holoschoenus*

De acuerdo con nuestros resultados (Capítulos 2 y 4) el complejo *S. holoschoenus* queda integrado por únicamente dos subespecies: subsp. *holoschoenus* y subsp. *australis*. Los datos moleculares (Capítulo 4) sugieren que pese a la proximidad entre ambos taxones sí existe una diferenciación entre *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* y *S. holoschoenus* subsp. *australis*. Por otro lado, las muestras de *S. holoschoenus* subsp. *australis* procedentes del este del Mediterráneo también mostraron diferencias con las del oeste Mediterráneo en dicho análisis (Capítulo 4). El estudio de la ecología resulta, por tanto, fundamental para comprender la delimitación de las dos subespecies de *S. holoschoenus* (Levin, 2000). En el Capítulo 2 se analizó la influencia de factores ambientales (edáficos y climáticos) sobre la distribución de los taxones de *Scirpoides* en la Península Ibérica. En nuestros resultados (Capítulo 2) *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* estuvo presente en la mayoría de las localidades muestreadas en la Península Ibérica, que correspondían con áreas de interior fundamentalmente en suelos arcillosos y/o limosos con clima termo-, meso- o supramediterráneo. *S. holoschoenus* subsp. *australis* se encontró únicamente en cinco dunas estacionarias con sustratos arenosos de pH ácido o básico y clima termomediterráneo o Templado sub-Mediterráneo, siempre limitándose a las costas. Nuestra diferenciación morfológica entre ambas subespecies coincide con la propuesta por Desfayes (2004), que separa *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* de *S. holoschoenus* subsp. *australis* en base a la robustez de la planta (la subsp. *holoschoenus* es más robusta que la subsp. *australis*, de menor tamaño y más esbelta) y la longitud y flexibilidad de la bráctea inferior (la subsp. *holoschoenus* tiene la bráctea inferior de pequeño tamaño y aspecto muy similar al tallo mientras que en la subsp. *australis* es de gran longitud y flexible). Nuestros datos también confirman la hipótesis de Pignotti (2003) sobre el requerimiento de suelos arenosos por *S. holoschoenus* subsp. *australis*.



### *Delimitación del hábitat Molinio-Holoschoenion*

*Molinio-Holoschoenion* fue descrito para la parte Mediterránea de Francia por Braun-Blanquet ex Tchou (1948) como juncuales de *S. holoschoenus* y hierbas altas y pastos con un elevado contenido de agua y suelos carbonatados permeables o no permeables. Anteriormente, Braun-Blanquet (1931) esbozó la alianza mediante la descripción del ancestral *Holoschoenion*, que este autor consideró como grupos de pastos Europeos distribuidos en la parte norte de la Europa Mediterránea, incluyendo montañas, y que tenían una relación cercana con los pastos de *Arrhenatheretalia*. De acuerdo con Braun-Blanquet (1931), la alianza *Holoschoenion* incluía juncuales de *S. holoschoenus* y pastos de riberas de ríos mientras que otros pastos como los de *M. arundinacea* estaban reunidos en la alianza centro-Europea *Molinion*, que podía encontrarse tanto en clima Mediterráneo como en clima Templado. Tchou (1948) reconoció que aquellos pastos con *M. arundinacea* y/o *S. nigricans* en clima Mediterráneo compartían el mismo hábitat que el *Holoschoenion* de Braun-Blanquet (1931) y creó *Molinio-Holoschoenion*. En nuestros resultados (Capítulo 3) las comunidades vegetales dominadas por *M. arundinacea* mostraron una relación próxima con aquellas dominadas por *S. holoschoenus*, de forma que juntas constituyen el núcleo de *Molinio-Holoschoenion*. Estos datos apoyan la definición de la alianza realizada por Tchou (1948) y su delimitación al clima Mediterráneo.

De acuerdo con la redefinición de *Molinio-Holoschoenion* propuesta en esta Tesis (Capítulo 3), la alianza puede ser dividida en tres unidades de vegetación o subgrupos: la primera constituida por las comunidades de *S. nigricans* (Subgrupo 1), la segunda integrada los juncuales de *Juncus acutus* L. y *Juncus maritimus* Lam. (Subgrupo 2) y la tercera formada por el núcleo de *Molinio-Holoschoenion* (Subgrupo 3).

En el caso del primer subgrupo reconocido en *Molinio-Holoschoenion* por nuestros resultados (Subgrupo 1; Capítulo 3), la especie dominante (*S. nigricans*) muestra un amplio rango ecológico ya que se puede encontrar en diferentes tipos de vegetación como turberas, pantanos o pastos (Rivas-Martínez et al., 2011). En este subgrupo, las comunidades de *S. nigricans* están caracterizadas por un elevado contenido de agua en el suelo y por la presencia de especies como *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter, *Saccharum ravennae* L., *Sonchus maritimus* subsp. *aquatilis* (L.) Nyman o *Carex flacca* Schreb.





El segundo subgrupo de *Molinio-Holoschoenion* está dominada por dos especies (*J. acutus* y *J. maritimus*) que tradicionalmente se han considerado características de la clase *Juncetea maritimi* (Braun-Blanquet et al., 1952). Sin embargo, Rivas-Martínez et al. (1980) situó aquellas comunidades con *J. acutus* y/o *J. maritimus* sobre suelos arenosos no salinos y caracterizadas por la ausencia de especies halófitas en *Molinio-Holoschoenion*. Posteriormente, Herrera (1995) reconoció las comunidades de Rivas-Martínez et al. (1980) como parte del hábitat *Molinio-Holoschoenion* y sugirió su inclusión en una nueva subalianza denominada *Junco acuti-Holoschoenenion*, caracterizada por requerir la presencia de suelos salinos pero carente de halófitos en su composición florística. Otros autores como Muñoz-Reinoso (1995) también han reconocido el carácter subsalino de estas comunidades. Nuestros resultados (Capítulo 3) muestran que las comunidades dominadas por *J. acutus* y *J. maritimus* constituyen un subgrupo dentro de *Molinio-Holoschoenion* semejante a la subalianza descrita por Herrera (1995) pero limitada al clima Mediterráneo, ya que según Herrera (1995) *Junco acuti-Holoschoenenion* podría alcanzar tanto la cornisa Cantábrica como las costas atlánticas de Francia, de clima sub-Mediterráneo. Nuestro subgrupo se diferencia de las comunidades de *Juncetea maritimi* en las dos premisas propuestas por Rivas-Martínez et al. (1980) y Herrera (1995): por un lado tiene carácter subsalino y no propiamente salino como las comunidades de *Juncetea maritimi* y, por otro lado, carece de halófitos en su composición florística.

El tercer y último subgrupo reconocido en *Molinio-Holoschoenion* a partir de nuestros análisis (Subgrupo 3, Capítulo 3) está integrado por aquellas comunidades que constituyen el núcleo de la alianza, es decir: pastos húmedos de *M. arundinacea*, juncales de *S. holoschoenus* y un conjunto de pastos que crecen en el hábitat de *Molinio-Holoschoenion*. Dichos pastos están dominados por especies como *Ranunculus macrophyllus* Desf., *Peucedanum hispanicum* (Boiss.) Endl., *Imperata cylindrica* (L.) Raeusch. o *Festuca arundinacea* subsp. *mediterranea* (Hack.) Franco & Rocha Afonso y se caracterizan por crecer sobre suelos básicos principalmente de la Península Ibérica. Esta clasificación se diferencia de la última clasificación de la alianza a nivel de la Península Ibérica (Rivas-Martínez et al., 2011) en que, siguiendo los criterios empleados para nuestra delimitación de la alianza, algunos de los pastos de Rivas-Martínez et al. (2011) deben ser incluidos en otras alianzas diferentes a



*Molinio-Holoschoenion*, ya sea por su composición florística (e.g. *Geo rivales-Cirsietum rosulati*) o su carácter arbustivo (e.g. *Hypericetum cambessedesii*).

Por otro lado, cabe destacar que la recopilación de datos bibliográficos realizada en esta Tesis (Capítulos 1 y 3) ha confirmado que la alianza *Molinio-Holoschoenion* presenta una mayor diversidad y extensión en el oeste Mediterráneo (fundamentalmente en la Península Ibérica) que en el este. Este patrón también se observa en otros hábitats Mediterráneos como es el caso de las charcas temporales (Quézel, 1998).

Otro punto relevante es entender la contribución proporcional de los países Europeos a *Molinio-Holoschoenion*. Dada la gran extensión del clima Mediterráneo en el noroeste de África (El Magreb) así como la coexistencia de *S. holoschoenus* y *S. globifera* en dicha zona, se puede inferir que dicho territorio puede albergar una considerable extensión y diversidad de comunidades de *Molinio-Holoschoenion*, que deberían ser estudiadas con mayor profundidad en próximos trabajos.

### *Interés para la conservación de Molinio-Holoschoenion*

A pesar de que la Directiva Hábitat recoge los "Prados húmedos de hierbas altas de *Molinio-Holoschoenion*" como merecedores de interés para la conservación en Europa (Directiva Hábitat 92/43/CEE; EC, 2013), no existe ningún estudio previo a esta Tesis que analice el alcance de dicho interés ni su prioridad para la conservación. En esta Tesis se han empleado tres criterios (responsabilidad regional, rareza local y vulnerabilidad del hábitat; Capítulo 1) para establecer una priorización de las comunidades vegetales incluidas en *Molinio-Holoschoenion*. Nuestros resultados (Capítulo 1) revelan que el mayor contenido en especies amenazadas se encuentra en los juncales subsalinos mientras que los pastos sobre suelos básicos albergan el mayor número de especies vulnerables. Por otro lado, nuestro estudio del interés para la conservación de *Molinio-Holoschoenion* (Capítulo 1) muestra que dicho hábitat no puede ser considerado como un bloque homogéneo en términos de conservación. Las comunidades tipo que ocupan las primeras posiciones de nuestro ranking de priorización deben interpretarse como las que necesitan mayor protección. Dichas comunidades se caracterizan por desarrollarse en condiciones ambientales constreñidas (e.g. dunas, serpentinas, suelos subsalinos) o territorios restringidos.



La primera posición del ranking de prioridad para la conservación (Capítulo 1) la ocupan los juncuales Canarios de *S. globifera* y *J. acutus*, que constituyen la única formación vegetal Europea caracterizada por *S. globifera*. Estos juncuales contribuyen en un porcentaje muy pequeño al paisaje vegetal natural Canario (Garzón-Machado et al., 2011), a pesar de que las Islas Canarias representan un área muy protegida cuya riqueza florística está salvaguardada por la legislación (Anexo 2 de la Directiva Hábitat 92/43/CEE; Reyes-Betancort et al., 2008). Los juncuales de *S. globifera* son especialmente importantes ya que están asociados a la presencia de comunidades de Sauce Canario (*Salix canariensis* C. Sm.) y, además, revelan suelos con un nivel freático elevado la mayor parte del año, en un área con disponibilidad de agua muy limitada debido al clima y a las condiciones topográficas (Hughes, 2005).

Nuestros resultados también destacan el interés para la conservación de los juncuales de *J. maritimus* y *Galium palustre* L. (Capítulo 1), que se caracterizan por indicar suelos subsalinos de ecosistemas dunares (Rivas-Martínez et al., 1980). Estos juncuales crecen en dunas estacionarias y, por tanto, forman parte de ecosistemas costeros que están sujetos a una presión antropogénica creciente, incluyendo el desarrollo costero, el uso humano directo para la recreación y el aumento del nivel del mar (Defeo et al., 2009). Cabe destacar que las dunas estacionarias ocupan los primeros puestos en la agenda internacional de conservación ya que poseen muchas especies de plantas raras y en peligro así como su fauna asociada (Grootjans et al., 1998) y, además, son particularmente susceptibles a la desestabilización a través de la presión recreativa (Kindermann & Gormally, 2013) y a la invasión de plantas exóticas por la presión de las actividades humanas (Campos et al., 2004).

Otras comunidades de *Molinio-Holoschoenion* que muestran un elevado interés para su conservación incluyen los juncuales serpentinícolas de *S. holoschoenus* y *S. nigricans* con *Galium viridiflorum* Boiss. & Reut. o los juncuales de *S. holoschoenus* con *Cirsium pyrenaicum* var. *micranthum* Talavera & Valdés (Capítulo 1). Dichas comunidades tienen en común que poseen un alto contenido en especies ibéricas endémicas o amenazadas y que ocupan márgenes de arroyos de ecosistemas de ribera (Cabezudo & Talavera, 2005; Moreno Saiz, 2008; Salazar et al., 2001). En este caso se han señalado amenazas como el pastoreo, las especies invasoras, la construcción de presas o el cambio climático (Capilla et al., 2011). El uso del suelo también influye en los ecosistemas fluviales a través de diferentes mecanismos, como



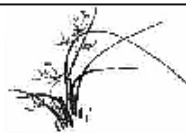
la contaminación y la alteración hidrológica (Allan, 2004). Las mayores amenazas para estas comunidades de pastos de *Molinio-Holoschoenion* consisten en la presión por pastoreo proveniente de la ganadería, la captación de agua y las alteraciones en el canal de los ríos, la tala de los bosques de ribera, la acumulación de residuos y contaminación del agua y eutrofización (Sánchez Gómez et al., 2006; Sainz Ollero, 2001).

### *Factores ecológicos que influyen sobre la vegetación de Molinio-Holoschoenion*

Algunas comunidades higrofíticas terrestres tales como las correspondientes a vegetación helofítica (*Phragmitetea*) o a la vegetación de turberas (*Scheuchzerio-Caricetea*) requieren un régimen prolongado de humedad en el suelo. Estudios previos de otros tipos de vegetación higrófila Europea (Molina & Moreno, 2003; Molina et al., 2003) también han señalado la humedad del suelo como el factor ambiental latente más importante en la explicación de la diversidad de comunidades vegetales.

En el caso de los prados de *S. holoschoenus*, estudios a escala local (Apéndice 2) revelan el contenido de iones solubles del suelo como el principal condicionante de la composición florística mientras que estudios a escala supranacional (Capítulo 3) destacan el régimen freático, que está relacionado con el período de inundación, como el factor ambiental latente más importante en la explicación de la diversidad florística de las comunidad vegetales. A escala nacional (Capítulo 2), el índice de Continentalidad y el índice de Mediterraneidad han sido los principales factores climáticos latentes que separan la vegetación dominada por *S. globífera* de la de *S. holoschoenus*, mientras que, por otro lado, los suelos arenosos están asociados a *S. holoschoenus* subsp. *australis*. En *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* nuestros análisis (Capítulo 2) muestran que factores edáficos como la textura arcillosa, el pH, el sodio y el magnesio son los principales condicionantes que explican la variabilidad florística. Este último trabajo (Capítulo 2) también destaca el contenido de agua del suelo como factor relevante en nuestros datos, por lo que se puede inferir que ambos factores, composición geoquímica del suelo y régimen de humedad, son los principales condicionantes de la vegetación de *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*.

Por último, cabe destacar que ni la profundidad del agua subterránea y sus requisitos de oscilación ni el grado de pastoreo necesarios para la presencia del



hábitat *Molinio-Holoschoenion* son conocidos por lo que se requiere un estudio más profundo de estos aspectos.

### *Encuadre filogenético de Scirpoides. Los otros géneros del clado Ficinia*

Nuestro estudio filogenético (Capítulo 4) representa el primer análisis evolutivo del clado *Ficinia* que incluye representantes de todos los géneros del clado. La inclusión de un número suficiente de muestras por especie nos permitió delimitar los géneros del clado *Ficinia* así como inferir la variabilidad intraespecífica en varias especies. En esta Tesis (Capítulo 4) *Scirpoides*, *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus* y *Hellmuthia* se resolvieron como grupos monofiléticos por primera vez, cada uno con sus propios rasgos morfológicos distintivos. *Ficinia* había sido revelado como monofilético en estudios anteriores (Muasya et al., 2001), pero nuestros datos muestran una especie (*Ficinia* sp. A) con una estrecha relación con algunos *Isolepis* (e.g. *I. marginata*, *I. leucoloma*). *Isolepis* es el único género del clado *Ficinia* que ya había sido revelado como parafilético en estudios previos que incluían un muestreo representativo del género (e.g. Muasya & de Lange, 2010), lo que ha sido confirmado por nuestros resultados.





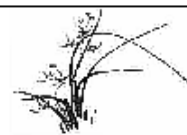
CONCLUSIONES

CONCLUSIONS



Fotografía: Balconete de Tajuña (Madrid).

Ana I. Sánchez García-Madrid



The Conclusions of this Doctoral Thesis are:

I. *Scirpoides* is a monophyletic genus composed by five species that form two groups distributed in southern Africa (*S. thunbergii*, *S. burkei*, and *S. varia*) and north Africa and the Mediterranean Basin (*S. holoschoenus* and *S. globifera*). *S. thunbergii* and *S. globifera* are here elevated to the species level.

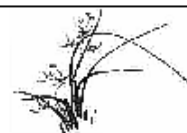
II. One species previously recognized in genus *Scirpoides* (*Scirpoides dioeca*) is here transferred to a new genus endemic to southern Africa (*Afroscirpoides*) on the basis of its molecular and morphological differences with *Scirpoides* s.str.

III. *Scirpoides holoschoenus* complex is composed by two subspecies: *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* and *S. holoschoenus* subsp. *australis*. These subspecies received molecular, morphological and ecological support in this Thesis.

IV. *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* is widely distributed through the Mediterranean basin. This subspecies grows on both base-rich and base-poor silty clay soils under Thermo-, Meso- or Supra-Mediterranean climate.

V. *S. holoschoenus* subsp. *australis* shows a restricted distribution, as it is limited to sandy soils of dune-slacks. This subspecies grows on base-rich and base-poor soils under Thermo- Mediterranean climate but, it can reach sub-Mediterranean Temperate climate dune-slacks.

VI. *Molinio-Holoschoenion* habitat is composed by *S. holoschoenus*, *Molinia arundinacea* and *Schoenus nigricans* communities under Mediterranean climate. This habitat is subdivided in three vegetation units or Sub-Alliances: the first one



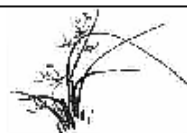
characterized by *Schoenus nigricans* communities, the second by rush meadows dominated by *Juncus acutus* or *Juncus maritimus* on sub-saline soils, and the third which constitutes the core of *Molinio-Holoschoenion*, with *S. holoschoenus* and *M. arundinacea* communities, together with some grasslands. This classification of the European *Molinio-Holoschoenion* highlights the Iberian Peninsula as a European hotspot for Mediterranean tall humid herb grasslands.

**VII.** *Molinio-Holoschoenion* should not be addressed as a homogeneous block in terms of threat categorization as it shows an uneven distribution of both plant-community types and species with conservation interest. The highest content in endangered species is found in subsaline rushes while grasslands on mineralized soils host the highest number of vulnerable species. The highest conservation values are achieved by coastal rush communities developing on dune slacks, and by forbs and rushes growing on banks of streams with oligotrophic waters. These communities are subjected to several different threats related to global change and land use.

**VIII.** The floristic composition of *Molinio-Holoschoenion* grasslands is primarily influenced by both the geochemical composition of the soil and the groundwater and moisture regimen. At a regional scale (Iberian Peninsula), the Continentality index and the Mediterranean index are the major latent climatic drivers that split *S. globifera* and *S. holoschoenus* while sandy soils are linked to *S. holoschoenus* subsp. *australis*, differentiating this subspecies from *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*. In this last subspecies, the edaphic factors clay, pH, Sodium and Magnesium are the main drivers explaining the variation in the floristic data. Supranational scale studies highlight the water table regime, which is related to the flooding period, as the most important latent environmental factor in explaining floristic plant community distribution.



**IX.** The *Ficinia* clade is composed by seven genera: *Ficinia*, *Isolepis*, *Scirpoides*, *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus*, *Afroscirpoides* and *Hellmuthia*. Most of the genera are here revealed as monophyletic (*Scirpoides*, *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus*, *Afroscirpoides* and *Hellmuthia*) while *Ficinia* and *Isolepis* are the only two genera of the clade that are paraphyletic.





71. 17



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCES



Fotografía: Tipo de *Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják (sub *Scirpus holoschoenus* L.)  
Ana I. Sánchez García-Madrid



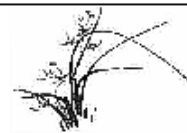
- Allan, J.D.** 2004. Landscapes and riverscapes: The influence of land use on stream ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 35: 257–284.
- Archer, C. & Muasya, A.M.** 2012. *Cyperaceae*. In: Manning, J. & Goldblatt, P. (Eds.). Plants of the Greater Cape Floristic Region I: the Core Cape Flora, *Strelitzia* 19: 84–96. South African Biodiversity Institute, Pretoria.
- Bernáldez, F.G. & Rey Benayas, J.M.** 1992. Geochemical relationships between groundwater and wetlands soils and their effects on vegetation in central Spain. *Geoderma* 55: 273–288.
- Bernáldez, F.G., Rey Benayas, J.M., Levassor, C. & Peco, B.** 1989. Landscape ecology of uncultivated lowlands in central Spain. *Landscape Ecology* 3: 3–18.
- Bernáldez, F.G.** 1988. Water and landscape in Madrid: Possibilities and limitations. *Landscape and Urban Planning* 16: 69–79.
- Bernáldez, F.G.** 1991. Ecological consequences of the abandonment of traditional land use systems in central Spain. *Options Méditerranéennes, Série Séminaires* 15: 23–29.
- Braun-Blanquet, J. & Bolòs, O. de.** 1957. Les groupements végétaux du bassin moyen Del l'Ebre et leur dynamisme. *Anales de la Estación Experimental de Aula Dei* 5: 1–266.
- Braun-Blanquet, J.** 1931. Aperçu des groupements végétaux du Bas-Languedoc. *Commun. Stat. Inst. Géobot. Médit. Montpellier* 9: 35–40.
- Braun-Blanquet, J., Roussine, N. & Negre R.** 1952. *Les Groupements Végétaux de la France Méditerranéenne. Prodrôme des Groupements Végétaux de la France*. 297 pp. Centre National de la Recherche Scientifique, CNRS, Paris.
- Browning, J.** 1989. Studies in *Cyperaceae* in southern Africa 14: A reappraisal of *Scirpus nodosus* and *S. dioecus*. *South African Journal of Botany* 55: 422–432.
- Browning, J. & Gordon-Gray, K.D.** 1994. Studies in *Cyperaceae* in Southern Africa 24. Three species of *Scirpoides*. *South African Journal of Botany* 60: 315–320.
- Browning, J. & Gordon-Gray, K.D.** 2011. Studies in *Cyperaceae* in Southern Africa 43: *Scirpoides* 21 *varius* Browning — a new name for *Scirpus varius* Boeck. Ex. C. B. Clarke. *South African Journal of Botany* 77: 506–508.
- Bruhl, J.J.** 1995. Sedge genera of the world: Relationships and a new classification of the *Cyperaceae*. *Australian Systematic Botany* 8: 125–305.
- Caballero, P., Fernández-González, F., Badia, R.P., Molle, G., Roggero, P.P., Bagella, S., et al.** 2009. Grazing systems and biodiversity in Mediterranean areas: Spain, Italy and Greece. *Pastos* 39: 9–53.
- Cabezudo, B. & Talavera, S.** (Coords.). 2005. Lista roja de la flora vascular de Andalucía. Andalucía: Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía.
- Campos, J.A., Herrera, M., Biurrun, I. & Loidi, J.** 2004. The role of alien plants in the natural coastal vegetation in central-northern Spain. *Biodiversity and Conservation* 13: 2275–2293.



- Castroviejo, S. & al.** (ed.). 2008. *Flora Ibérica*. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Vol. XVIII *Cyperaceae-Pontederiaceae*. Real Jardín Botánico, C.S.I.C. Madrid.
- De Filippis, R.A.** 1980. *Scirpus* L. In: Tutin T.G. et al. (eds), *Flora Europaea* (V). Cambridge: Cambridge University Press.
- Defeo, O., McLachlan, A., Schoeman, D. S., Schlacher, T. A., Dugan, J., Jones, A., et al.** 2009. Threats to sandy beach ecosystems: A review. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 81: 1–12.
- Desfayes, M.** 2004. The specific status of *Cyperus badius* and the subspecies of *Scirpoides holoschoenus* (Cyperaceae), with special reference to Sardinia. *Flora Mediterranea* 14: 173–188.
- Directiva 92/43/CEE** del Consejo de 21 de Mayo de 1992 relativa a la conservación de los Hábitats naturales y de la fauna y flora silvestres.
- EC (European Commission).** 2013. *Interpretation manual of European Union Habitats – EUR* 28. European Commission. DG Environment, Brussels, BE.
- EEA.** 2009. Distribution and targeting of the CAP budget from a biodiversity perspective. EEA Technical Report 123/2009. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.
- Fiori, A.** 1923. *Nouva flora analitica d'Italia* 1: 170-176. Firenze.
- Garzón-Machado, V., del Arco Aguilar, M.J. & Pérez de Paz, P.L.** 2011. A tool set for description and mapping vegetation on protected natural areas: An example from the Canary Islands. *Biodiversity Conservation* 20: 3605–3625.
- Goetghebeur, P.** 1998. *Cyperaceae*. Pp. 141–190 in: Kubitzki, K. (ed.), *The families and genera of vascular plants 4, flowering plants, monocotyledons: Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)*. Berlin: Springer-Verlag.
- Grootjans, A.P., Diggelen, M., Wassen, J. & Wiersinga, W.A.** 1988. The effects of drainage on groundwater quality and plant species distribution in stream valley meadows. *Plant Ecology* 72: 37–48.
- Grootjans, A.P., Ernst, W.H.O. & Stuyfzand, P.J.** 1998. European dune slacks: Strong interactions of biology, pedogenesis and hydrology. *Tree* 1.7(3): 96–100.
- Guinochet, M. & Vilmorin, R. de.** 1978. *Flore de France*. Fascicule 3. Pp. 1050-1051. Paris: Centre National de la Recherche Scientifique.
- Halada, L., Evans, D., Romão, C. & Petersen, J. E.** 2011. Which habitats of European importance depend on agricultural practices? *Biodiversity and Conservation* 20: 2365–2378.
- Herrera, M.** 1995. Estudio de la vegetación y flora vascular de la cuenca del Río Asón (Cantabria). *Guineana* 1: 1–435.



- Hughes, S.J.** 2005. Application of the water framework directive to macaronesian freshwater systems. *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy* 105B: 185–193.
- IUCN.** 2014. The IUCN Red List of Threatened Species v. 2012.2. <http://www.iucnredlist.org> (accessed 29.04.14).
- Jung, J. & Choi, H.K.** 2013. Recognition of two major clades and early diverged groups within the subfamily *Cyperoideae* (*Cyperaceae*) including Korean sedges. *J. Plant Res.* 126: 335–349.
- Kati, V., Zografou, K., Tzirkalli, E., Chitos, T. & Willemse, L.** 2012. Butterfly and grasshopper diversity patterns in humid Mediterranean grasslands: The roles of disturbance and environmental factors. *Journal of Insect Conservation* 16. <http://dx.doi.org/10.1007/s10841-012-9467-2>
- Kindermann, G. & Gormally, M. J.** 2013. Stakeholder perceptions of recreational and management impacts on protected coastal dune systems: A comparison of three European countries. *Land Use Policy* 31: 472–485.
- Kukkonen, I.** 1998. *Cyperaceae*. Pp. 1–307 in: Rechinger, K.H. (ed.), *Flora Iranica* 173. Graz: Akademische Druck und Verlagsanstalt.
- Kunth, C.S.** 1837. *Enumeratio plantarum 2. Cyperographia synoptica*. Stuttgart & Tübingen: Sumtibus J.G. Cotta.
- Landete-Castillejos, T., Andrés-Abellán, M., Argandoña, J. J., & Garde, J.** 2000. Distribution of the Cabrera vole (*Microtus cabreræ*) in its first reported areas reassessed by live trapping. *Biological Conservation* 94: 127–130.
- Levin D.A.** 2000. The origin, expansion, and demise of plant species. Oxford University Press, New York.
- Levyns, M.R.** 1950. *Cyperaceae*. In: *Flora of the Cape Peninsula*. Eds: R. S. Adamson & T. M. Salter. Pp. 97–132. Juta, Cape Town, Johannesburg.
- Maire, R.** 1957. *Flore de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara)*. Volume IV: *Monocotyledonae: Glumiflorae: Cyperaceae, Principes, Spathiflorae, Commelinales*. Pp. 51–54. Paris: Paul Lechevalier.
- Molina, J.A. & Moreno, P.S.** 2003. Diversity of the helophytic vegetation in Spain. *Acta Botanica Gallica* 150: 167–193.
- Molina, J.A., Casermeiro, M.A. & Moreno, P.S.** 2003. Vegetation composition and soil salinity in a Spanish Mediterranean coastal ecosystem. *Phytocoenologia* 33/2: 475–494.
- Moreira, F., Pinto, M.J., Henriques, I. & Marques, T.** 2005. Importance of low-intensity farming systems for fauna, flora and habitats protected under the European “Birds” and “Habitats” directives: Is agriculture essential for preserving biodiversity in the Mediterranean region? In A. R. Burk (Ed.), *Trends in biodiversity research* (pp. 117–145). New York: Nova Science Publishers.



- Moreno Saiz, J.C.** (Coord.) (2008). Lista roja 2008 de la flora vascular española. Madrid: Dirección General de Medio Natural y Política Forestal, Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino.
- Muasya, A.M.** 2005. *Ficinia anysbergensis* and *F. esterhuyseniae* (Cyperaceae), two new species from the Cape Floristic Region of South Africa. *South African Journal of Botany* 71: 197–200.
- Muasya, A.M. & Simpson, D.A.** 2002. A monograph of the genus *Isolepis* R. 77 Br. (Cyperaceae). *Kew Bulletin* 57: 257–362.
- Muasya, A.M. & de Lange, P.J.** 2010. *Ficinia spiralis* (Cyperaceae) a new genus and combination for *Desmoschoenus spiralis*. *New Zealand Journal of Botany* 48: 31–39.
- Muasya, A.M., Simpson, D.A., Chase, M.W. & Culham, A.** 1998. An assessment of the suprageneric phylogeny in Cyperaceae using rbcL DNA sequences. *Plant Systematics and Evolution* 211: 257–271.
- Muasya, A.M., Simpson, A.D. & Goetghebeur, P.** 2000. New Combinations in *Trichophorum*, *Scirpoides*, and *Ficinia* (Cyperaceae). *Novon*, 10: 132–133.
- Muasya, A.M., Simpson, D.A., Chase, M.W. & Culham, A.** 2001. A phylogeny of *Isolepis* (Cyperaceae) inferred using plastid rbcL and trnL-F sequence data. *Systematic Botany* 26: 342–353.
- Muasya, A.M., Simpson, D.A., Verboom, G.A., Goetghebeur, P., Naczi, R.F.C., Chase, M.W. & Smets, E.** 2009a. Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data: current progress and future prospects. *Botanical Review* 75: 2–21.
- Muasya, A.M., Vrijdaghs, A., Simpson, D.A., Chase, M.W., Goetghebeur, P. & Smets, E.** 2009b. What is a Genus in Cyperaceae: Phylogeny, Character Homology Assessment and Generic Circumscription in Cyperaceae. *Botanical Review* 75: 52–66.
- Muasya, A.M., Reynders, M., Goetghebeur, P., Simpson, D.A. & Vrijdaghs, A.** 2012. *Dracoscirpoides* (Cyperaceae) — A new genus from Southern Africa, its taxonomy and floral ontogeny. *South African Journal of Botany* 78: 104–115.
- Muñoz-Reinoso, J.C.** 1995. Influencia del agua freática sobre la vegetación de las áreas de descarga sobre arenas en la reserva biológica de Doñana. *Limnetica* 11(2): 9–16.
- Pignatti, S.** 1982. Flora d' Italia 3. Edagricole. Bologna.
- Pignotti, L.** 2003. *Scirpus* L. and related genera (Cyperaceae) in Italy. *Webbia* 58/2: 281–400.
- Quezel, P. & Santa, S.** 1962. *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome I. Pp. 166–167. Paris: Centre National de la Recherche Scientifique.
- Quézel, P.** 1998. La végétation des mares transitoires a *Isoetes* en région méditerranéenne, intérêt patrimonial et conservation. *Ecologia Mediterranea* 24/2: 111–117.
- Reyes-Betancort, J.A., Santos Guerra, A., Guma, I.R., Humphries, C. J. & Carine, M.A.** 2008. Diversity, rarity and the evolution and conservation of the Canary Island endemic flora. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 65: 25–45.



- Rey Benayas, J.M., & Scheiner, S.M.** 1993. Diversity patterns of wet meadows along geochemical gradients in central Spain. *Journal of Vegetation Science* 4: 103–108.
- Rivas-Martínez, S.** 1982. Mapa de las series de vegetación de Madrid. Servicio Forestal, del Medio Ambiente y Contra Incendios. Diputación Provincial de Madrid.
- Rivas-Martínez, S., Costa, M., Castroviejo, S. & Valdés, E.** 1980. Vegetación de Doñana (Huelva, España). *Lazaroa* 2: 5–190.
- Rivas-Martínez, S., et al.** 2011. Mapa de series, geoserias y geopermaseries de vegetación de España. *Itinera Geobotanica* 18: 296–298.
- Sainz Ollero, H.** 2001. *Galium viridiflorum* Boiss. & Reuter. Madrid: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- Salazar, C., Lorite, J., García-Fuentes, A., Torres, J.A., Cano, E. & Valle, F.** 2001. A Phytosociological study of the hygrophilous vegetation of Sierra Nevada (Southern Spain). *Studia Geobotanica* 21: 17–32.
- Sánchez Gómez, P., Carrión Vilches, M.A. & Vera Pérez, J.B.** 2006. *Succisella andreae-molinae*. In IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org) (downloaded on 17 June 2013).
- San Miguel, A.** (Coord.). 2009. *Los pastos de la Comunidad de Madrid*. Tipología, Cartografía y Evaluación. Serie Técnica de Medio Ambiente nº4. Comunidad de Madrid, Madrid.
- Séguier, J.F.** 1754. *Plantae veronenses*, 3, 73. Verona.
- Shiels, D., Hurlbut, D.L., Lichtenwald, S.K. & Monfils, A.K.** 2014. Monophyly and Phylogeny of *Schoenoplectus* and *Schoenoplectiella* (Cyperaceae): Evidence from Chloroplast and Nuclear DNA Sequences. *Systematic Botany* 39: 132–44.
- Simpson, D.A.** 1995. Relationships with Cyperales. Pp. 497–409 in: Rudall, P.J., Cribb, P.J., Cutler, D.F. & Humpries, C.J. (eds.), *Monocotyledons: Systematics and Evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond.
- Simpson, D.A. & Inglis, C.A.** 2001. Cyperaceae of economic, ethnobotanical and horticultural importance: a checklist. *Kew Bulletin* 56: 257–360.
- Simpson, D.A., Muasya, A.M., Alves, M.V., Bruhl, J.J., Dhooge, S., Chase, M.W., Furness, C.A., Ghamkhar, K., Goetghebeur, P., Hodkinson, T.R., Marchant, A.D., Reznicek, A.A., Nieuwborg, R., Roalson, E.H., Smets, E., Starr, J.R., Thomas, W.W., Wilson, K.L. & Zhang, X.** 2007. Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data – a new rbcL analysis. *Aliso* 23: 72–83.
- Soják, J.** 1972a. Doplnky k nomenclature některých rodů (Phanerogamae). V *Casopise Národní Muzea*, odd. přír. 140: 127–134.
- Soják, J.** 1972b. Doplnky k nomenclature některých rodů (Phanerogamae). V *Casopise Národní Muzea*, odd. přír. 141: 61–63.
- Tchou, Y.-T.** 1948. Études écologiques et phytosociologiques sur les forêts riveraines du Bas-Languedoc (*Populetum albae*). *Vegetatio* 1/1: 2–28.





- Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, 154 S.M. & al.** 1964–1980. *Flora Europaea* (Vol. I–V) Cambridge: Cambridge University Press.
- Tziaila, C.E., Veresoglou, D.S., Papakosta, D. & Mamolos, A.P.** 2006. Changes in soil characteristics and plant species composition along a moisture gradient in a Mediterranean pasture. *Journal of Environmental Management* 80: 90–98.
- Van der Veken, P.** 1965. Contribution à l'embryographie systématique des *Cyperaceae-Cyperoideae*. *Bulletin Jardin botanique État Bruxelles* 35: 285–354.
- WCSP.** 2014. *World Checklist of Selected Plant Families*. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://apps.kew.org/wcsp/> Retrieved 15/09/2014.
- Yano, O., Ikeda, H., Watson, M.F., Rajbhandari, K.R., Jin, X.F., Hoshino, T., Muasya, A.M. & Ohba, H.** 2012. Phylogenetic position of the Himalayan genus *Erioscirpus* (*Cyperaceae*) inferred from DNA sequence data. *Botanical Journal of the Linnean Society* 170: 1–11.





**OTROS TRABAJOS RELACIONADOS CON LA TESIS**  
**OTHER MANUSCRIPTS RELATED WITH THE DISSERTATION**



Fotografía: Embalse Los Bermejales (Granada).

Paloma Cantó Ramos



## Apéndice 1 / Appendix 1

Fotografía: Carretera a Campanario, EX-349 (Badajoz).

Paloma Cantó Ramos



# Diversidad de las praderas juncuales de Junco Churrero (*Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják) en el tramo medio de la cuenca del Tajo



**Ana I. Sánchez García-Madrid**

Facultad de Farmacia. UCM

Trabajo de investigación. Master en CC. Farmacéuticas

Directores: Paloma Cantó Ramos, José Antonio Molina Abril



# INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

## ANTECEDENTES:

Las praderas juncuales son ecosistemas mesofíticos más o menos condicionados por una cierta humedad edáfica, que completan, junto con los cervunales formados por *Nardus stricta* L., el importante grupo de praderas antropógenas de Europa occidental. Uno de los tipos de juncuales son los constituidos por la alianza *Molinio-Holoschoenion*, que engloba los prados húmedos mediterráneos de hierbas altas dominados por el junco churrero (*Scirpoides holoschoenus*). Estas comunidades se caracterizan por crecer sobre cualquier tipo de sustrato, con preferencia por suelos ricos en nutrientes, y por situarse en zonas que mantienen algo de humedad edáfica durante el estío, proveniente de la existencia de aguas nacientes, lo que condiciona su desarrollo a fondos de valles, en contacto con pequeñas corrientes de agua como arroyos o regatos. Se trata de ecosistemas con óptimo en el clima mediterráneo, que se encuentran, por tanto, ampliamente distribuidos en la Península Ibérica, así como en Baleares y Canarias. A diferencia de otras praderas juncuales, éstas sufren un estiaje acusado, y generalmente su presencia representa una etapa de degradación de las alamedas, olmedas y fresnedas.

Dada la importancia de las comunidades de junco churrero como agostadero natural (terreno de pastoreo con vegetación natural) y la escasa información existente sobre la composición florística de las mismas en la zona de estudio, así como la falta de estudios que relacionen la vegetación con el medio edáfico, se ha considerado la necesidad de realizar un estudio de estas características. Este trabajo también se justifica en base al hecho de que estos ecosistemas se encuentran protegidos por la Directiva Hábitat (92/43/CEE/6420), lo que supone que se debe evitar su destrucción.

## OBJETIVOS:

Para la realización del presente trabajo se fijaron como objetivos:

- Identificación de las comunidades vegetales tipo o asociaciones de la praderas juncuales de junco churrero (*Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják) en el tramo medio de la cuenca del Tajo.
- Estudio de su biodiversidad.
- Relación entre las comunidades vegetales y los factores edáficos.

## FLORÍSTICO-ECOLÓGICA:

Este estudio se engloba dentro del proyecto de investigación: “Análisis de la capacidad de secuestro de carbono por los juncuales de la Cuenca del Tajo”, el cual se plantea desde un enfoque multidisciplinar, contando con un equipo de edafólogos, microbiólogos y botánicos, e introduce un nuevo aspecto en cuanto a la recaptación de CO<sub>2</sub> por los ecosistemas naturales, intentando demostrar de esta forma la importancia de la biomasa como fijadora de carbono y que permitiría emplear estos ecosistemas como sumidero de carbono, con el fin de alcanzar un equilibrio con las emisiones del

mismo. El principal objetivo de este proyecto es el análisis de la posible capacidad amortiguadora del cambio climático incipiente por parte de las praderas juncuales de *S. holoschoenus*, gracias a dicha retención de carbono tanto por las formas vivas, en forma de biomasa vegetal o microbiana, así como el secuestro en forma de moléculas orgánicas e inorgánicas por parte del suelo, materia orgánica del suelo y carbonato cálcico.

En el presente trabajo se desarrolla la primera parte del proyecto, centrada únicamente en el tramo medio del río Tajo, y que se basa en el estudio de las comunidades vegetales que forma *S. holoschoenus* en dicho tramo, así como las primeras medidas de biomasa llevadas a cabo en esta zona. Para ello se han realizado inventarios fitosociológicos en las localidades seleccionadas, que a su vez, permiten relacionar la vegetación con los parámetros edáficos obtenidos en las muestras de suelo tomadas en dichas zonas de estudio. Asimismo, los resultados de biomasa vegetal obtenidos hasta el momento, y que se presentan en este trabajo, se compararán en estudios posteriores con los obtenidos a lo largo de la monitorización que se está realizando actualmente.

## LA ZONA DE ESTUDIO:

El río Tajo nace en una zona elevada de los Montes Universales, en la Sierra de Albarracín, en un importante nudo hidrográfico en el que también encuentran su origen los ríos Júcar, Turia y Cabriel. Desde ese punto desciende siguiendo una dirección noroeste (límite entre las provincias de Cuenca y Guadalajara), penetrando posteriormente de lleno en la provincia de Guadalajara, por la que discurre profundamente, sobre las calizas mesozoicas de esta zona. Posteriormente cambia de dirección en las proximidades del pueblo de Huertapelayo, donde toma rumbo suroeste. Poco después de Trillo, las aguas del río se embalsan en los pantanos de Entrepeñas y Bolarque, del que parten las aguas para el canal Tajo-Segura, y al que también confluyen los caudales aportados por el Guadiela procedentes del pantano de Buendía. Más adelante, el Tajo entra en la gran depresión tectónica conocida como “Fosa del Tajo” mediante un desfiladero a través de los relieves de la Sierra de Altomira y, desde allí, y tras atravesar terrenos de la Provincia de Madrid, en la que recibe algunos de sus afluentes más caudalosos, se dirige hacia el borde norte de los Montes de Toledo, después de pasar por esa misma capital. En este sector de su curso medio, el Tajo toma una dirección noroeste y una vez atravesado el Puente del Arzobispo, el río abandona tierras castellano-manchegas para adentrarse en Extremadura. En su paso por la provincia de Cáceres, forma embalses como el de Valdecañas y Torrejón, este último, situado dentro del Parque Nacional de Monfragüe, recibe también las aguas del río Tiétar en su desembocadura. Tras atravesar la ciudad cacereña de Alcántara, el río continúa en dirección suroeste, adentrándose en Portugal, donde pasa por ciudades como Constancia, en la que recibe al río Zézere por su derecha, o Santarém, llegando finalmente, al estuario mar de la Paja, en el cual se integran zonas húmedas, lodos, salinas, islotes y terrenos agrícolas. Este estuario está situado junto a Lisboa, y supone la desembocadura del río en el Océano Atlántico.

Debido a su gran extensión, la cuenca hidrográfica del Tajo posee gran variedad de ambientes climáticos, que posibilitan la existencia de gran número y variedad de comunidades vegetales. De esta forma, la diversidad ecológica de la cuenca se ve favorecida por la presencia de varias unidades geomorfológicas a lo largo del curso del río así como por diferentes grados altitudinales.

Las localidades de muestreo escogidas para este trabajo se encuentran comprendidas dentro del tramo central de la cuenca, que comprende el paso del río desde la “fosa del Tajo” hasta el borde norte de los Montes de Toledo. Se escogió esta zona para el comienzo del estudio gracias a su proximidad a la Comunidad de Madrid, donde se encuentra el equipo de investigación, y debido a las posibilidades que ofrece la zona en cuanto a factores edáficos y climáticos en un pequeño espacio geográfico, lo cual facilita los desplazamientos e incrementa el rendimiento de trabajo, con el fin de obtener los primeros resultados.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio de las comunidades vegetales se recurrió inicialmente a la recopilación de toda la bibliografía existente sobre las mismas (Anexo II), con el fin de contrastar nuestros resultados de campo y aportar nuevos datos sobre la ecología de las praderas juncas mediterráneas. Para el estudio de las comunidades vegetales en campo se realizaron inventarios fitosociológicos en un total de 23 localidades, todas ellas situadas dentro del tramo medio de la cuenca del río Tajo y representativas del mismo (Anexo III). Los inventarios se realizaron según el método de la escuela de Zurich-Montpellier (BRAUN-BLANQUET, 1979; GEHÚ & RIVAS-MARTÍNEZ, 1981), definiendo asociación vegetal como el conjunto de plantas que explotan un ecosistema con unas características físicas y bióticas semejantes. El análisis estadístico de las mismas se realizó mediante el programa SYN-TAX, que permite diferenciar asociaciones vegetales en base a la abundancia de las especies que las componen, para lo que fue necesario transformar los datos de frecuencia en una escala porcentual. En el análisis de asociaciones se emplearon los datos bibliográficos, de los que sólo se tuvieron en cuenta aquellas especies que aparecían en más de una localidad y que eran propias de este tipo de vegetación, descartando aquellas cuya distribución ecológica resultaba irrelevante en este estudio y aquellas cuya determinación había sido incompleta.

Dentro del estudio de la biodiversidad de estas comunidades se analizó tanto la  $\alpha$ -diversidad como la biomasa vegetal. Para el análisis de la  $\alpha$ -diversidad, entendiendo como tal el número de especies que se dan en un área determinada (MEFFE & CARROLL, 1997), se partió de los datos bibliográficos, calculando la media y desviación típica de cada inventario recogido para el trabajo. En el caso de la biomasa vegetal, se seleccionaron tres de las localidades de estudio en base a criterios bioclimáticos y edáficos, representativas de la cuenca del río Tajo y en las cuales está presente una misma asociación vegetal. Éstas se caracterizan por pertenecer a un bioclima mesomediterráneo superior de ombrotipo seco inferior y encontrarse las tres sobre sustrato granítico de composición variada, abundando elementos como las adamellitas o los leucogranitos de grano medio a grueso, cuyos minerales principales son cuarzo, feldespato potásico, plagioclasa y biotita (GUIDI *et al.*, 2005). En los tres casos los perfiles de los suelos que se clasifican (FAO, 1989) como Regosoles, Leptosoles y Cambisoles. Estas localidades se están monitorizando de tal forma que la medida de biomasa vegetal se realiza a lo largo de las diferentes estaciones del año, en concreto cuatro veces por año durante dos años. Para ello se delimitaron subparcelas de 4 m<sup>2</sup>, en las cuales se recoge la biomasa aérea por encima de 10 cm de la superficie del suelo. Esta biomasa fresca recolectada es separada por especies, desecada en estufa a 70°C durante 72 horas (CASERMEIRO *et al.*, 2004) y pesada. La comparación de las medidas realizadas en las diferentes estaciones permitirá conocer cual es la cantidad de carbono que son capaces de fijar estos ecosistemas, con objeto de favorecer su conservación y potenciar su recuperación. Asimismo, estas medidas también son útiles en cuanto a que aportan nuevos datos sobre la biodiversidad de estas comunidades en forma de biomasa.

Para relacionar vegetación recogida en los inventarios experimentales (Anexo III) con los parámetros edáficos muestreados (Proyecto de Investigación UCM. Santander pr34/07-15889) obtenidos en cada localidad estudiada se empleó el programa estadístico CANOCO, que permite establecer una relación suelo-vegetación en base a

los gradientes de factores edáficos medidos. Como parámetros edáficos se analizaron pH, conductividad eléctrica, materia orgánica,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ . Para realizar este estudio se seleccionaron, dentro de todas las localidades inventariadas, aquellas de las que se disponía de datos edáficos, siendo éstas un total de 17.

En la nomenclatura de los sintaxones y de los taxones característicos de los mismos se siguió el criterio de RIVAS-MARTÍNEZ *et al.* (2002). Para la denominación del resto de los taxones (especies compañeras) se tuvieron en cuenta, además, otros autores como: CASTROVIEJO *et al.*, 1986-2008, TUTIN *et al.*, 1964-1980, BOLÓS *et al.*, 1990, TALAVERA & VALDÉS, 1976 y VICIOSO, 1976. Mención especial merece el criterio considerado en el caso de la especie dominante (Anexo I).

Para realizar el estudio bioclimático del territorio se trabajó con la información proporcionada por los observatorios meteorológicos, a través del Instituto Nacional de Meteorología. Los índices y parámetros elegidos han sido extraídos de RIVAS-MARTÍNEZ (2006): **P** (precipitación anual), **T** (temperatura media anual), **m** (temperatura media de las mínimas del mes más frío), **M** (temperatura media de las máximas del mes más frío), **Tp** (temperatura positiva anual, es decir, la suma de las temperaturas medias de los meses que tienen una media superior a 0°C), **lc** (índice de continentalidad, es decir, la diferencia entre la temperatura media del mes más cálido y la temperatura media del mes más frío del año;  $T_{\text{max}} - T_{\text{min}}$ ), **lo** (índice ombrotérmico anual, es decir, el cociente entre la suma de la precipitación en mm de los meses cuya temperatura media es superior a 0°C y la suma de las temperaturas medias mensuales superiores a 0°C, multiplicado por 10;  $(Pp/Tp) \times 10$ ), **lt** (índice de termicidad, es decir, la suma de T, m y M multiplicado por 10;  $(T + m + M) \times 10$ ), **ltc** (índice de termicidad compensado). Las estaciones meteorológicas seleccionadas, parámetros e índices bioclimáticos se resumen en la siguiente tabla:

Estación, altitud (m)	P	T	Tp	lo	lc	lt	ltc	Termotipo	Ombrotipo
Arganda del Rey, 618 m	428	13,8	1652	2,59	18,4	243	245	Mesomediterráneo superior	Seco inferior
Atienza, 1250 m	538	10,9	1306	4,12	18,3	157	158	Supramediterráneo inferior	Subhúmedo inferior
Brunete, 580 m	404	12,9	1548	2,61	20,4	213	225	Mesomediterráneo superior	Seco inferior
Buitrago de Lozoya, 974 m	725	10,6	1266	5,73	16,5	174	174	Supramediterráneo inferior	Subhúmedo superior
Calera y Chozas, 392 m	629	16,6	1991	3,16	20,8	310	324	Mesomediterráneo inferior	Seco superior
Collado Villalba, 917 m	637	13,4	1607	3,96	19,1	236	241	Mesomediterráneo superior	Subhúmedo inferior
Fuentidueña de Tajo, 571 m	452	14,0	1681	2,69	20,7	228	242	Mesomediterráneo superior	Seco inferior
Sacedón, 650 m	628	13,3	1601	3,92	19,6	221	229	Mesomediterráneo superior	Subhúmedo inferior



Sigüenza, 988 m	601	10,9	1312	4,58	18,9	164	169	Supramediterráneo inferior	Subhúmedo inferior
Tamajón, 1000 m	797	12,1	1447	5,51	18,6	189	192	Supramediterráneo inferior	Subhúmedo superior
Villarejo de Montalbán, 533 m	464	15,1	1816	2,56	20,5	268	281	Mesomediterráneo superior	Seco inferior

TABLA 1: Principales parámetros e índices bioclimáticos de las estaciones meteorológicas seleccionadas. P viene dado en mm y T en °C.

De acuerdo con los datos obtenidos, se concluye que el bioclima del territorio es mediterráneo pluviestacional oceánico semicontinental (Ic 19-21). Como se puede observar, todas las estaciones pertenecen a los termotipos supra y mesomediterráneo, representativos de la cuenca del Tajo en la mayor parte de su recorrido, hasta que el río se adentra en Portugal, donde también encuentra localidades con termotipo termomediterráneo, en las proximidades de su desembocadura.

Para la delimitación biogeográfica del territorio se siguió el criterio de RIVAS-MARTÍNEZ (2007), que divide la Península Ibérica en provincias, las cuales a su vez se subdividen en subprovincias, sectores, subsectores y distritos. De acuerdo con RIVAS-MARTÍNEZ (2007), el territorio de estudio se encuentra comprendido dentro de las provincias biogeográficas Mediterránea Ibérica Central y Mediterránea Ibérica Occidental.



MAPA 1: Mapa biogeográfico de la Península Ibérica (tomado de RIVAS-MARTÍNEZ 2007).



: Situación de la zona de estudio.

Dentro de la provincia Mediterránea Ibérica Occidental (de amarillo en el mapa), se encuentran zonas situadas tanto en la subprovincia Carpetano-Leonesa (que comprende gran parte del Noroeste de la Península Ibérica), de la que se han estudiado parte de los sectores Guadarrámico y Bejarano-Gredense; así como en la subprovincia Luso-Extremadureña (en el Suroeste de la Península Ibérica), en la que la zona estudiada pertenece al sector Toledano-Tagano.

En cuanto a la provincia Mediterránea Ibérica Central (en color naranja en el mapa), el territorio estudiado pertenece a la subprovincia Castellana y más concretamente a los sectores Celtibérico-Alcarreño y Manchego.

En el estudio de la geología y geomorfología del territorio se recurrió únicamente a datos bibliográficos, con el fin de tener conocimiento la procedencia del material litológico sobre el que se iba a trabajar. De esta forma se puede observar que la zona analizada es parte de la gran cuenca de sedimentación generada a fines del Oligoceno al fracturarse y hundirse importantes sectores del zócalo de la Meseta, en parte fosilizados por una débil cobertura de materiales cretácicos. Sobre esa extensa fosa tectónica se estableció, a lo largo del Mioceno, un sistema de lagos y lagunas, cuyos sedimentos la colmatan hoy con un espesor que puede sobrepasar los 1000 m (MUÑOZ JIMENEZ, 1977). Con el fin de facilitar el estudio geológico, se dividió el territorio en cuatro zonas, dentro de las cuales se han seleccionado varias localidades, todas ellas pertenecientes a la Comunidad de Madrid y a las Provincias de Guadalajara y Toledo (Comunidad de Castilla-La Mancha).

- ZONA 1: Proximidades de la Sierra de Ayllón y Sigüenza (Provincia de Guadalajara).

El macizo antiguo de la Sierra de Ayllón, constituido por un núcleo gneísico, se encuentra rodeado por un conjunto de sierras paleozoicas de materiales diversos que son bordeadas por una orla periférica de estratos mesozoicos y que se diferencian del primero tanto por las formas estructurales como por la litología. Dentro de estas sierras periféricas se seleccionaron un total de seis localidades de estudio, todas ellas pertenecientes al piso bioclimático supramediterráneo.

En la orla periférica mesozoica se pueden diferenciar afloramientos constituidos por materiales triásicos, que presentan una disposición subparalela al Sistema Central y muestran importantes variaciones de espesor de unos lugares a otros. Entre ellos pueden observarse bancos de conglomerados, capas de calizas tableadas y estratos compuestos por arcillas, yesos y arcillas yesíferas (FIDALGO, 1998).

- ZONA 2: Páramos de la Alcarria (Provincia de Guadalajara (Castilla-La Mancha), Comunidad de Madrid).

Las Alcarrias, Campiñas y Cuestas se desarrollan sobre una estructura geológica compuesta por estratos de diversas rocas pertenecientes al Terciario superior (Mioceno), que generalmente se disponen de forma horizontal.

En este caso, la estructura geológica queda marcada por la disposición horizontal y la gran variedad de tipos de rocas que se encuentran en los sustratos, dando lugar a una erosión diferencial. Se distingue un tramo inferior denominado “unidad detrítica-yesífera” cuya estructura a la altura de las localidades seleccionadas en esta zona, está formada por elementos finos como son yesos y margas. A nivel de la Alcarria madrileña esta unidad está formada por un notable espesor de yesos y sales (ASENSIO *et al.*, 1998). Las

localidades de estudio en esta zona han sido cuatro, seleccionadas en esta región por pertenecer al piso bioclimático mesomediterráneo.

- ZONA 3: La Meseta Toledana (Provincia de Toledo, Castilla-La Mancha).

A consecuencia de su gran antigüedad geológica (procede de la Orogenia Herciniana de la era Primaria), la erosión ha destruido casi completamente el primitivo volumen de la Meseta, del que sólo quedan sus dos flancos, constituidos por pizarras y cuarcitas, que se asocian a una serie de sierras. El núcleo de la estructura ha sido totalmente erosionado al haber desaparecido en su totalidad las estructuras plegadas preexistentes y, por ello, en su lugar afloran rocas profundas de naturaleza granítica, dispuestas a modo de gran banda este-oeste (VÁZQUEZ *et al.*, 1998). Es en este núcleo granítico en el que se encuentran las localidades de estudio, cinco en este caso, todas ellas pertenecientes al termotipo mesomediterráneo.

- ZONA 4: Borde sur de la Sierra de Guadarrama (Comunidad de Madrid).

El borde sur de la Sierra de Guadarrama está constituido por materiales sedimentarios del Cretácico superior, que se apoyan discordantemente sobre un basamento paleozoico constituido por materiales metamórficos e ígneos. Como suprayacente se encuentran depósitos del Terciario en la cuenca de Madrid y del Cuaternario en la cuenca del Jarama, afluente del Tajo. Los materiales graníticos están ampliamente representados y existe una notable variedad por su composición y textura, de tal forma que el tipo litológico más importante corresponde a las admellitas, fundamentalmente porfídicas con predominio biotítico. Por otro lado los afloramientos metamórficos están constituidos por metasedimentos pelíticos con intercalaciones areniscosas (GUIDI *et al.*, 2005). Dentro de esta zona se pueden diferenciar dos subzonas: la primera en el Suroeste de la Comunidad de Madrid, en la que se seleccionaron cinco localidades de estudio, con bioclima mesomediterráneo. La segunda subzona, en el Norte de la Comunidad de Madrid, con tres localidades, situadas dentro del piso bioclimático supramediterráneo.

# RESULTADOS

## • IDENTIFICACIÓN DE LAS COMUNIDADES TIPO O ASOCIACIONES

La clasificación de las asociaciones reconocidas en el territorio, procedentes de la bibliografía (Anexo II), dio como resultado el dendrograma que se muestra en la Figura 1. En esta figura se muestran dos grandes grupos, el grupo A, al que se adscriben las praderas juncuales basófilas o subhalófilas y, por otro lado, el grupo B, correspondiente a las comunidades silicícolas. Dentro del primer grupo se diferencian los juncuales basófilos y juncuales subsalinos en diferente grado. En el caso de los juncuales basófilos se diferencian dos asociaciones que se corresponden con los dos pisos bioclimáticos estudiados: para el piso mesomediterráneo se reconoce la asociación *Holoschoenetum vulgaris* Br.-Bl. ex Tchou 1948 y para el supramediterráneo la asociación *Lysimachio ephemeri-Holoschoenetum* Rivas Goday & Borja 1961. Para los juncuales subsalinos se reconoce una sola asociación (*Holoschoeno-Juncetum acuti* Rivas-Martínez & Costa in Rivas-Martínez, Costa, Castroviejo y E. Valdés 1980), si bien, se encuentran diferencias en cuanto a aquellas comunidades en las que la especie dominante es *Scirpoides holoschoenus*, las cuales se encuentran más próximas a las comunidades de juncuales basófilos mesomediterráneos, y aquellas en las que la especie dominante es *Juncus acutus*, que a pesar de formar la misma asociación se encuentra más diferenciada de las anteriores, pero englobada en el mismo subgrupo.

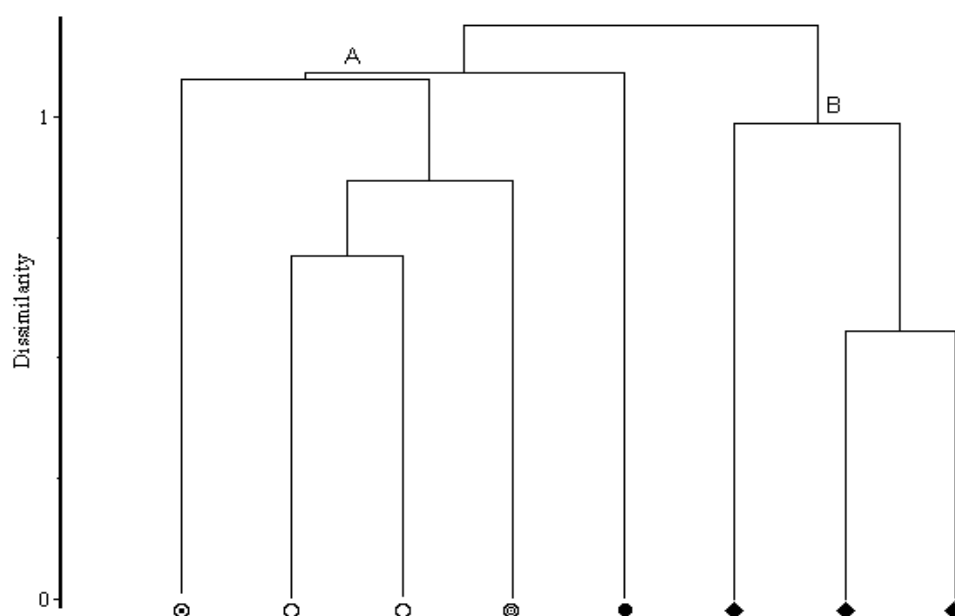


FIGURA 1: Clasificación de las comunidades tipo o asociaciones en el centro peninsular. Siendo: ○: Juncuales basófilos mesomediterráneos (*Holoschoenetum vulgaris*); ⊗: Juncuales basófilos supramediterráneos (*Lysimachio ephemeri-Holoschoenetum*); Juncuales subsalinos dominados por

*Scirpoides holoschoenus* (⊙) o por *Juncus acutus* (●) (*Holoschoeno-Juncetum acuti*); ◆: Juncuales silicícolas meso y supramediterráneos (*Trifolio resupinati-Holoschoenetum*).

Cabe destacar, sintaxonómicamente, que mientras que en el caso de los juncuales basófilos se diferencian dos asociaciones, una para el piso bioclimático mesomediterráneo y otra para el supramediterráneo, en el de los juncuales silicícolas sólo se reconoce una asociación (*Trifolio resupinati-Holoschoenetum* Rivas Goday 1964) para ambos termotipos.

Asimismo, merece mención el hecho de que los juncuales subsalinos de *Holoschoeno-Juncetum acuti* se encuentran más próximos a los juncuales basófilos que a los silicícolas, cuando actualmente están clasificados dentro de la subalianza *Brizo-Holoschoenenion*, caracterizada por su carácter silicícola, lo cual indica que pese a encontrarse sobre suelo silíceo tienen mayor similitud florística con las asociaciones basófilas, haciendo que también sea necesario un nuevo estudio sobre estas asociaciones.

Todas estas asociaciones se caracterizan por ser comunidades vegetales constituidas preferentemente por especies herbáceas hemicriptófitas, con dominio de ciperáceas gramíneas, juncáceas y leguminosas. Sus exigencias se limitan a un suelo más o menos profundo con un nivel freático a ras de la superficie en verano. Son praderas juncuales de óptimo mediterráneo, generalmente intermedias entre comunidades de mayor humedad, más próximas al río, y prados más o menos densos con un grado de xerofilia más acusado. Dentro de los juncuales basófilos, la asociación *Holoschoenetum vulgaris* se caracteriza por encontrarse sobre suelos básicos hidromorfos que se inundan raramente pero cuya capa freática alcanza el nivel de las raíces del juncal (LAORGA, 1986), estando documentada su presencia tanto en el termotipo mesomediterráneo (LAORGA, 1986), como supramediterráneo (LOIDI *et al.*, 1997), aunque en este estudio sólo se encontró en el termotipo mesomediterráneo, en las localidades situadas en la Alcarria. La segunda asociación basófila, *Lysimachio ephemeris-Holoschoenetum*, se encuentra normalmente en altitudes superiores a los 1000 metros, sobre taludes margosos rezumantes de aguas saturadas de carbonato cálcico (RIVAS GODAY & BORJA, 1961); en este caso su distribución también está documentada en los termotipos meso y supramediterráneo (LOIDI *et al.*, 1997) pero sólo se encontró en las proximidades de la Sierra de Ayllón, en el Noroeste de la provincia de Guadalajara, con termotipo supramediterráneo.

En cuanto a las asociaciones silicícolas, la primera de ellas, *Trifolio resupinati-Holoschoenetum*, se caracteriza por evitar los suelos encharcados (AMOR *et al.*, 1993) y por contactar, en muchas de las localidades de estudio, con juncuales de *Juncion acutiflori*, presentes en suelos con mayor hidromorfía; esta asociación se encontró en los termotipos meso y supramediterráneo, en la zona de la Sierra de Guadarrama, dentro de la Comunidad de Madrid. Por último, la asociación *Holoschoeno-Juncetum acuti* se encuentra sobre suelos arenosos meso-oligótrofos pseudogleizados, ricos en iones debido al acusado lavado inverso de sales durante el verano (RIVAS-MARTÍNEZ *et al.*, 1980); esta asociación se reconoció en algunas localidades de sustrato granítico de la zona de la Meseta Toledana, con termotipo mesomediterráneo.

- $\alpha$  - DIVERSIDAD

La Tabla 2 muestra el número medio de especies presentes para cada asociación estudiada. Cabe destacar que se observa mayor número de especies en las comunidades silicícolas que en las basófilas. Nuestras muestras en la zona (Anexo III) presentan la misma tendencia.

	Asociación	Nº Inventarios	$\bar{x}$
1	<i>Lysimachio ephemeri-Holoschoenetum</i>	2	12 $\pm$ 1
2	<i>Holoschoenetum vulgaris</i>	10	11,60 $\pm$ 3,7469
3	<i>Holoschoenetum vulgaris</i>	14	8,3571 $\pm$ 2,0910
4	<i>Holoschoenetum-Juncetum acuti</i>	5	8,80 $\pm$ 1,3266
5	<i>Holoschoenetum-Juncetum acuti</i>	3	14,66 $\pm$ 2,0548
6	<i>Trifolio resupinati-Holoschoenetum</i>	8	16,875 $\pm$ 4,1060
7	<i>Trifolio resupinati-Holoschoenetum</i>	7	15,5714 $\pm$ 3,5799
8	<i>Trifolio resupinati-Holoschoenetum</i>	5	15,20 $\pm$ 1,7205

TABLA 2: Cálculo de  $\alpha$ -diversidad, partiendo de los datos bibliográficos (Anexo II). Siendo: 1. FUENTE, 1985; 2. CIRUJANO, 1981; 3. LAORGA, 1986; 4. LAORGA, 1986; 5. BELMONTE, 1986; 6. BELMONTE, 1986; 7. FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, 1988; 8. SARDINERO, 2004.

- ANÁLISIS DE LA BIOMASA VEGETAL

Los resultados del análisis de la Biomasa vegetal en las localidades de muestreo seleccionadas (Anexo IV) se muestran de forma resumida en la Tabla 3, presentándose como la suma total del peso muestreado por biotipo en cada localidad. Con el fin de obtener resultados relacionados con el posible secuestro de carbono es necesaria la obtención de futuras medidas en diferentes estaciones del año con el fin de poder compararlas y validar la hipótesis de partida.

Biotipo	Pelayos de la Presa	Chapinería	Colmenar del Arroyo
Hemicriptófitos	2338,257	2394,524	2170,864
Terófitos	13,25	25,426	81,741
Neófitos	62,4	-	-

TABLA 3: Medida de Biomasa correspondiente a Junio '08. Los datos se expresan en gr.



- RELACIÓN ENTRE LAS COMUNIDADES VEGETALES Y LOS FACTORES EDÁFICOS

El análisis de gradiente directo realizado con los datos experimentales se muestra en la Figura 2. En esta Figura se representa la distribución de las especies características y diferenciales de las asociaciones reconocidas en relación con los factores edáficos medidos. Se observa que se diferencian dos grandes grupos: a la izquierda de la gráfica se sitúan todas aquellas localidades con suelos con una concentración de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{NO}_3^-$  por encima de la media, que se corresponden con las asociaciones de juncuales no calcáreos (*Trifolio resupinati-Holoschoenetum* y *Holoschoeno-Juncetum acuti*), mientras que en la zona de la derecha de la gráfica se encuentran aquellas localidades cuya concentración edáfica de  $\text{Mg}^+$ ,  $\text{Ca}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{SO}_4^{2-}$  así como conductividad eléctrica son mayores que la media, dando lugar a las asociaciones de juncuales calcáreos (*Holoschoenetum vulgaris* y *Lysimachio ephemerii-Holoschoenetum*).

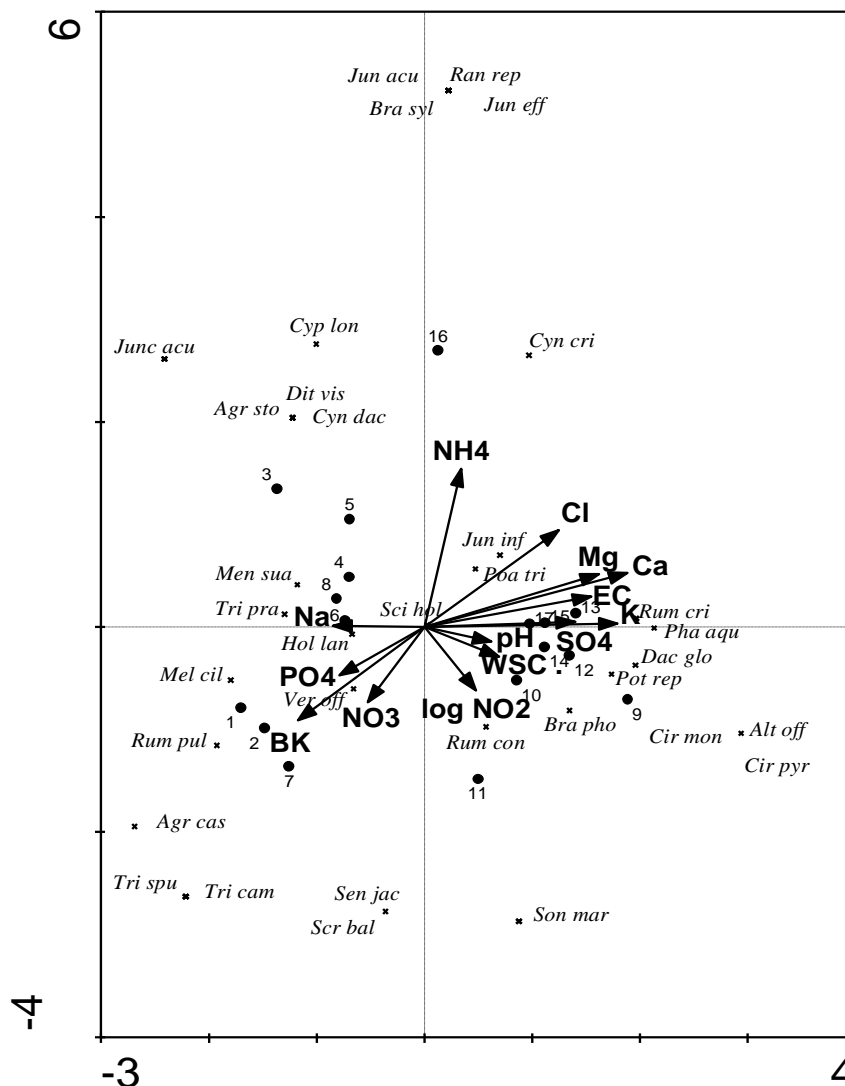


FIGURA 2: Relación suelo-vegetación: parámetros edáficos, especies características y diferenciales. Siendo: 1. Villarejo de Montalbán (Toledo), 39° 46' 10,7'' N; 4° 34' W; 2. Santa Ana de Pusa (Toledo), 39° 45' 44'' N; 4° 43' 36,5'' W; 5. San Martín de Pusa (Toledo), 39° 49' 28,1'' N; 4° 38' 27,3'' W; 6. Pelayos de la Presa (Madrid), 40° 21' 41'' N; 4° 19' 37,6'' W; 7. Navas del Rey (Madrid), 40° 23' 5,7'' N; 4° 14' 19,7'' W; 8. Valdemorillo (Madrid), 40° 28' 37,2'' N; 4° 01' 13,0'' W; 9. Orusco de Tajuña (Madrid), 40° 16' 31,3'' N; 3° 12' 12,9'' W; 10. Estremera, Río Llano (Madrid), 40° 10' 23,5'' N; 3° 01' 30,6'' W; 11. Valderacete (Madrid), 40° 14' 16,7'' N; 3° 12' 50,9'' W; 12. Carretera M110 (Guadalajara), 41° 9' 20'' N; 2° 42' 4'' W; 13. Imón (Guadalajara), 41° 9' 29,4'' N; 2° 44' 18,7'' W; 14. La Miñosa (Guadalajara), 41° 12' 27,7'' N; 2° 54' 50,6'' W; 15. Naharros-Cogolludo (Guadalajara), 41° 9' 48,2'' N; 2° 55' 31'' W; 16. Hiendelaencina (Guadalajara), 41° 4' 41,8'' N; 2° 59' 11,1'' W; 17. Veguillas (Guadalajara), 40° 59' 39'' N; 3° 4' 24,9'' W.

Se observa también la correlación existente entre determinados factores edáficos, como son  $\text{Ca}^{+}$ - $\text{Mg}^{+}$ -conductividad eléctrica, así como  $\text{K}^{+}$ - $\text{SO}_4^{2-}$ , lo que hace que los resultados obtenidos para uno de ellos sean aplicables al resto, de tal forma que, para posteriores estudios, permite eliminar variables, haciendo el estudio más sencillo. Por otro lado también se comprueba cómo especies como *Mentha suaveolens*, *Cyperus longus* subsp. *badius* o *Juncus inflexus*, de conocido carácter nitrófilo, se encuentran próximas a un gradiente de Amonio, especialmente en el caso de *Cyperus longus* subsp. *badius*.

Merece mención el caso de la localidad número 16 (Hiendelaencina, Guadalajara), cuya presencia en Amonio es tan elevada que resta importancia a otros parámetros edáficos. Este  $\text{NH}_4^{+}$  está ligado a la presencia de *Juncus acutus*, especie que, por otro lado se encuentra sólo en aquellas localidades de mayor salinidad y que determinará la presencia de la asociación *Holoschoeno-Juncetum acuti*.

## ESQUEMA SINTAXONÓMICO

*Molinio-Arrhenatheretea* Tüxen 1937

*Holoschoenetalia vulgaris* Br.-Bl. ex Tchou 1948

*Molinio-Holoschoenenion vulgaris* Br.-Bl. ex Tchou 1948

*Molinio-Holoschoenenion* Rivas-Martínez, Costa, Castroviejo & E. Valdés 1980.

*Lysimachio ephemeri-Holoschoenetum* Rivas Goday & Borja 1961

*Holoschoenetum vulgaris* Br.-Bl. ex Tchou 1948

*Brizo-Holoschoenenion* (Rivas Goday 1964) Rivas-Martínez in Rivas-Martínez, Costa, Castroviejo & E. Valdés 1980.

*Trifolio resupinati-Holoschoenetum* Rivas Goday 1964

*Holoschoeno-Juncetum acuti* Rivas-Martínez & Costa in Rivas-Martínez, Costa, Castroviejo y E. Valdés 1980

# TAXONES MENCIONADOS EN LOS INVENTARIOS FITOSOCIOLÓGICOS

- Achillea millefolium* L.  
*Agrimonia eupatoria* L.  
*Agrostis castellana* Boiss. & Reut.  
*Agrostis stolonifera* L. var. *stolonifera*  
*Agrostis pourretii* Willd.  
*Alisma lanceolatum* With.  
*Allium roseum* L.  
*Allium guttatum* subsp. *sardoum* (Moris) Stearn  
*Allium schoenoprasum* L. subsp. *schoenoprasum*  
*Althaea cannabina* L.  
*Althaea officinalis* L.  
*Ammi majus* L.  
*Ammi visnaga* (L.) Lam.  
*Anagallis arvensis* L.  
*Anagallis foemina* Mill.  
*Anchusa italica* Retz.  
*Anthoxanthum aristatum* Boiss.  
*Anthoxanthum odoratum* L. subsp. *odoratum*  
*Anthriscus caucalis* M. Bieb.  
*Aristolochia paucinervis* Pomel  
*Arrhenatherum elatius* subsp. *bulbosum*  
 (Willd.) Schübler & Martens  
*Asparagus acutifolius* L.  
*Asparagus officinalis* L.  
*Asphodelus aestivus* Brot.  
*Atriplex patula* L.  
*Avena sterilis* L.  
*Bellardia trixago* (L.) All.  
*Brachypodium phoenicoides* (L.) Roem. & Schult.  
*Brachypodium sylvaticum* (Huds.) P. Beauv.  
*Brassica barrelieri* (L.) Junka  
*Briza media* L.  
*Briza minor* L.  
*Bromus diandrus* Roth  
*Bromus hordeaceus* L.  
*Bromus lanceolatus* Roth  
*Bromus madritensis* L.  
*Bromus racemosus* L.  
*Bromus squarrosus* L.  
*Bryonia cretica* subsp. *dioica* (Jacq.) Tutin  
*Bupleurum gerardi* subsp. *filicaule* (Brot.) P. Cout.  
*Calystegia sepium* (L.) R.Br.  
*Campanula lusitanica* L. in Loeffl. subsp. *lusitanica*  
*Campanula rapunculus* L.  
*Carduus bourgeanus* Boiss. & Reut.  
*Carduus tenuiflorus* Curtis  
*Carex cuprina* (L. Sándor ex Heuff.) Nendtv. ex A. Kern.  
*Carex distans* L.  
*Carex divisa* subsp. *chaetophylla* (Steud.) Nyman  
*Carex divisa* Huds. subsp. *divisa*  
*Carex flacca* Schreb.  
*Carex hirta* L.  
*Carex hispida* Willd.  
*Carex mairii* Coss. & Germ.  
*Carex muricata* subsp. *lamprocarpa* Celak  
*Carex leporina* L.  
*Carthamus lanatus* L. subsp. *lanatus*  
*Carum verticillatum* (L.) Koch  
*Centaurium pulchellum* (Sw.) Druce  
*Centaurium spicatum* (L.) Fritsch  
*Chamaemelum nobile* (L.) All.  
*Cichorium intybus* L.  
*Cirsium arvense* (L.) Scop.  
*Cirsium monspessulanum* (L.) Hill  
*Cirsium pyrenaicum* (Jacq.) All. var. *pyrenaicum*  
*Cirsium pyrenaicum* (Jacq.) All. var. *longespinosum*  
*Cirsium vulgare* (Savi) Ten.  
*Cochlearia glastifolia* L.  
*Conium maculatum* L.  
*Convolvulus arvensis* L.  
*Crataegus monogyna* Jacq. subsp. *monogyna*  
*Crepis capillaris* (L.) Wallr.  
*Ctenopsis delicatula* (Lag.) Paunero  
*Cynodon dactylon* (L.) Pers.  
*Cynoglossum cheirifolium* L.  
*Cynosurus cristatus* L.  
*Cynosurus echinatus* L.  
*Cyperus longus* subsp. *badius* (Desf.) Bonnier & Layens  
*Dactylis glomerata* L.  
*Dactylis hispanica* Roth subsp. *hispanica*  
*Dactylorhiza elata* subsp. *sesquipedalis* (Willd.) Soó  
*Danthonia decumbens* (L.) DC.  
*Daphne gnidium* L.  
*Daucus carota* L. subsp. *carota*  
*Delphinium gracile* DC.  
*Deschampsia cespitosa* subsp. *hispanica* Vivant  
*Diploaxis catholica* (L.) DC.  
*Dipsacus fullonum* L.  
*Dipsacus sylvestris*  
*Ditrichia viscosa* (L.) Greuter subsp. *viscosa*  
*Dorycnium gracile* Jord.  
*Echium plantagineum* L.  
*Elytrigia repens* (L.) Desv. ex Nevski  
*Epilobium hirsutum* L.  
*Equisetum arvense* L.  
*Equisetum ramosissimum* Desf.  
*Equisetum telmateia* Ehrh.  
*Eryngium campestre* L.  
*Festuca ampla* Hack. subsp. *ampla*  
*Festuca arundinacea* Schreb. subsp. *arundinacea*  
*Festuca fenas* Lag.  
*Festuca interrupta*  
*Festuca rothmaleri* (Litard.) Markgr.-Dann.  
*Filago lutescens* Jord.  
*Flueggea tinctoria* (L.) G.L. Webster  
*Foeniculum vulgare* Mill. subsp. *vulgare*  
*Fraxinus angustifolia* Vahl  
*Galactites tomentosa* Moench  
*Galium aparine* L.  
*Galium aparinella* Lange  
*Galium debile* Desv.  
*Galium palustre* L.  
*Galium verum* L. var. *verum*  
*Gaudinia fragilis* (L.) P. Beauv. var. *fragilis*  
*Geranium dissectum* L.  
*Geranium lucidum* L.  
*Gladiolus illyricus* Koch  
*Glyceria declinata* Bréb.  
*Hirschfeldia incana* (L.) Lagr.-Foss.  
*Hypericum tomentosum* L.  
*Holcus lanatus* L.  
*Holcus setigermis* Boiss. & Reut.  
*Hordeum hirtum* Roth  
*Hordeum murinum* L. subsp. *murinum*  
*Humulus lupulus* L.  
*Hieracium pilosella* L. subsp. *pilosella*  
*Hypericum perforatum* L.  
*Hypochaeris radicata* L. subsp. *radicata*  
*Iris lusitanica* Ker-Gawler  
*Juncus acutiflorus* Ehrh. ex Hoffmanns.  
*Juncus acutus* L.

*Juncus articulatus* L.  
*Juncus conglomeratus* L.  
*Juncus effusus* L.  
*Juncus inflexus* L.  
*Juncus maritimus* Lam.  
*Juncus squarrosus* L.  
*Lactuca serriola* L.  
*Lactuca saligna* L.  
*Lamium purpureum* L.  
*Lavatera triloba* L.  
*Leontodon rongirrostris* (Finch & P.D. Sell) Talavera  
*Lepidium heterophyllum* (DC.) Benth  
*Linum maritimum* L.  
*Linum tenue* Desf.  
*Linum trigynum* L.  
*Lolium perenne* L.  
*Lolium rigidum* Gaudin  
*Lotus corniculatus* L. subsp. *corniculatus*  
*Lotus edulis* L.  
*Lotus pedunculatus* Cav.  
*Lythrum salicaria* L.  
*Lysimachia ephemerum* L.  
*Malcolmia patula* DC.  
*Mantisalca salmantica* (L.) Briq. & Cavill.  
*Marrubium vulgare* L.  
*Matricaria recutita* L.  
*Medicago lupulina* L.  
*Medicago rigidula* (L.) All.  
*Medicago sativa* L. subsp. *sativa*  
*Melica ciliata* subsp. *magnolii* (Gren. & Godr.) K. Richt.  
*Melilotus albus* Medik  
*Mentha aquatica* L.  
*Mentha cervina* L.  
*Mentha pulegium* L.  
*Mentha suaveolens* Ehrh.  
*Mycelis muralis* (L.) Dumort.  
*Myosotis scorpioides* subsp. *lamottiana* Braun-Blanq.  
ex Chassagne  
*Nardus stricta* L.  
*Nepeta cataria* L.  
*Odontites vernus* subsp. *serotinus* (Dumort) Corb.  
*Oenanthe crocatta* L.  
*Oenanthe lachenalii* G.Gmel  
*Oenanthe pimpinelloides* L.  
*Ononis spinosa* L. subsp. *spinosa*  
*Onopordum nervosum* Boiss. subsp. *nervosum*  
*Orchis morio* subsp. *champagneuxii* (Barn.) Camus  
*Ornithogalum narbonense* L.  
*Ornithogalum umbellatum* L.  
*Osyris alba* L.  
*Pallenis spinosa* (L.) Cass.  
*Petrorhagia nanteuillii* (Burnat) P.W. Ball & Heywood  
*Phalaris aquatica* L.  
*Phalaris coerulescens* Desf.  
*Phleum pratense* subsp. *serotinum* (Jord.) Berher  
*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex. Steud.  
*Picnemon acarna* (L.) Cass.  
*Picris echinoides* L.  
*Plantago lanceolata* L. subsp. *lanceolata*  
*Plantago major* L. subsp. *major*  
*Poa compressa* L.  
*Poa trivialis* L. subsp. *trivialis*  
*Poa trivialis* subsp. *sylvicola* (Guss.) H.Lindb.  
*Polypogon maritimus* Willd. subsp. *maritimus*  
*Polypogon monspeliensis* (L.) Desf.  
*Populus nigra* L.  
*Potentilla reptans* L.  
*Prunella vulgaris* L.  
*Pulicaria paludosa* Link  
*Ranunculus bulbosus* subsp. *aleae* (Willk.) Rouy & Foucaud  
*Ranunculus repens* L.  
*Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss.  
*Rosa agrestis* Savi  
*Rosa canina* L.  
*Rubia tinctorum* L.  
*Rubus ulmifolius* Schott  
*Rumex acetosa* L. subsp. *acetosa*  
*Rumex acetosella* subsp. *angiocarpus* (Murb.) Murb.  
*Rumex conglomeratus* Murray  
*Rumex crispus* L.  
*Rumex papillaris* Boiss. & Reut.  
*Rumex patientia* L.  
*Rumex pulcher* L. subsp. *pulcher*  
*Salix purpurea* L. subsp. *purpurea*  
*Sambucus ebulus* L.  
*Samolus valerandi* L.  
*Sanguisorba officinalis* L.  
*Saponaria officinalis* L.  
*Schoenoplectus lacustris* subsp. *tabernaemontani* (C.C. Gmel) Syme  
*Schoenus nigricans* L.  
*Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják subsp. *holoschoenus*  
*Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis* (Murray) Soják  
*Scolymus hispanicus* L.  
*Scrophularia balbisii* subsp. *valentina* (Rouy) Ortega, Oliv. & Devesa  
*Senecio doria* L.  
*Senecio jacobea* L.  
*Silene latifolia* Poir.  
*Silene vulgaris* (Moench) Garcke subsp. *vulgaris*  
*Sonchus asper* (L.) Hill  
*Sonchus asper* subsp. *glaucescens*  
*Sonchus maritimus* subsp. *aquaticus* (Poir.) Nyman  
*Silybum marianum* (L.) Gaertn.  
*Taeniatherum caput-medusae* (L.) Nevski  
*Taraxacum officinale* Weber  
*Thalictrum speciosissimum* L. in Loeffl.  
*Thapsia villosa* L.  
*Torilis arvensis* (Huds.) Link subsp. *arvensis*  
*Torilis arvensis* subsp. *neglecta* Thell  
*Torilis elongata* (Hoffmanns. & Link) Samp.  
*Trifolium angustifolium* L.  
*Trifolium campestre* L.  
*Trifolium dubium* Sibth.  
*Trifolium lappaceum* L.  
*Trifolium pratense* L.  
*Trifolium repens* L.  
*Trifolium resupinatum* L.  
*Trifolium spumosum* L.  
*Trifolium squamosum* L.  
*Ulmus minor* Mill.  
*Urtica dioica* L.  
*Verbascum pulverulentum* Vill.  
*Verbascum rotundifolium* subsp. *hanselieri* (Boiss.) Murb.  
*Verbascum sinuatum* L.  
*Verbena officinalis* L.  
*Veronica hederifolia* L.  
*Vicia benghalensis* Desf.  
*Vicia lutea* L.  
*Vicia parviflora* Cav.  
*Vicia sativa* L.  
*Vicia tetrasperma* (L.) Schreb.  
*Vulpia bromoides* (L.) S.F. Gray  
*Vulpia geniculata* (L.) Link

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amigo Vázquez, J. & M. I. Romero Buján (1997): Comportamiento fitosociológico de *Smyrnum olusatrum* L. en el noroeste ibérico. *Lazaroa* 18: 153-164.
- Amor, A., M. Ladero & C. J. Valle (1993): Flora y Vegetación vascular de la Comarca de la Vera y Laderas Meridionales de la Sierra de Tormantos (Cáceres, España). *Studia Botanica* 11:11-207.
- Asensio, I., J. A. González & A. Vázquez González (1998): Páramos y Campiñas de la Alcarria. In: Guía de Castilla La Mancha, 740 pp: 377-398. *Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha*, 4ª ed. Toledo.
- Barkman, J., J. Moravec & S. Rauschert (1986): Code of Phytosociological nomenclature. *Vegetatio* 67 (3): 145-195.
- Bartolomé Esteban, C., F. J. Rejos Ballesteros & J. Álvarez Jiménez (2002): Flora y vegetación de la baja Alcarria de Guadalajara. Unión FENOSA. 204 pp.
- Bellot, F., M. E. Ron & R. Carballal (1979): Mapa de la Vegetación de la Alcarria Occidental. *Trab. Dep. Botánica y F. Veg.* 10: 3-32.
- Belmonte López, M. D. (1986): Estudio de la flora y vegetación de la comarca y sierra de las Corchuelas. Parque Natural de Monfragüe. Cáceres. Tesis Doctoral inédita. Departamento de Biología Vegetal II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.
- Bolós, O., J. Vigo, R. M. Masalles & J. M. Ninot (1990): Flora manual dels Països Catalans. Barcelona. 1247 pp.
- Braun-Blaunquet, J. (1979): Fitosociología. Bases para el estudio de las comunidades vegetales. H. Blume, Madrid, 820 pp.
- Cabezudo, B., J. M. Nieto-Caldera & A. Pérez Latorre (1989): Contribución al conocimiento de la vegetación edafófila-serpentinícola del sector Rondeño (Málaga, España). *Acta Bot. Malacitana* 14: 291-294.
- Cabezudo, B., J. M. Nieto-Caldera & A. Pérez Latorre (1989): Junco rugosi-Ericetum andevalensis. *Acta Bot. Malacitana* 14: 294-296.
- Cantó, P. (2004): Estudio fitosociológico y biogeográfico de la sierra de San Vicente y tramo inferior del valle del Alberche (Toledo, España): *Lazaroa* 25: 187-249.
- Casermeiro, M. A., J. A. Molina, M. T. de la Cruz Caravaca, J. Hernando Costa, M. I. Hernando Massanet & P. S. Moreno (2004): Influence of scrubs on runoff and sediment loss in soils of Mediterranean climate. *Catena* 57: 91-107.
- Castroviejo, S. & al. (ed.) (2008): *Flora Ibérica*. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Vol. XVIII Cyperaceae-Pontederiaceae. Real Jardín Botánico, C.S.I.C. Madrid.
- Cirujano, S. (1981): Las lagunas manchegas y su vegetación II. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 38 (1): 187-232.
- Costa Tenorio, M. (1981): Aportaciones al conocimiento florístico de la alineación de Altomira. *Trab. Dep. Botánica y F. Veg.* 11: 137- 152.
- Esteso Esteso, F. (1992): Vegetación y flora del campo de Montiel. Interés Farmacéutico. *Instituto de Estudios Albacetenses*. Serie 1, num. 59. Albacete. 412 pp.
- Fernández González, F. (1988). Estudio florístico y fitosociológico del Valle del Paular (Madrid). Tesis Doctoral. Departamento de Biología Vegetal II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.
- Fidalgo Hijazo, C (1998): Sierra de Ayllón. In: Guía de Castilla La Mancha, 740 pp: 377-398. *Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha*, 4ª ed. Toledo.
- Font-Quer, P. (1953): Diccionario de Botánica. Ed. Labor, 1244pp. Barcelona.
- Fuente, V. de la (1985): Vegetación orófila del occidente de la provincia de Guadalajara (España). *Lazaroa* 8: 123-219.
- García Cachán, R. & M. E. García González (1987): Datos sobre las praderas juncuales leonesas. *Lazaroa* 7: 411- 421.
- García Rollán, M. (1981): Claves de la flora de España (Península y Baleares). Ed. Mundi-Prensa, vol. I y II. Madrid.



- Géhu, J. M. & S. Rivas-Martínez (1981): Notions fondamentales de Phytosociologie. Syntaxonomie. J. Cramer, 5-33. Vaduz.
- Gómez-Mercado, F. & F. Valle (1992): Pastizales higrófilos en el sector Subbético. *Studia Bot.* 10: 39-52.
- Guidi, R., R. Mas & G. Sarti (2005): La sucesión sedimentaria siliciclástica del Cretácico superior del borde sur de la Sierra de Guadarrama (Madrid, España Central): Análisis de facies y reconstrucción paleoambiental. *Revista de la Sociedad Geológica de España*, 18 (1-2): 99-111.
- Kit Tan (1985): Gen. *Scirpus* L. In: Davies P. H. (ed.), Flora of Turkey and the East Aegean Islands, 9: 61-62. Edinburgh.
- Kit Tan & A. Oteng-Yeboah, (1985): Gen. *Scirpoides* L. In: Davies P. H. (ed.), Flora of Turkey and the East Aegean Islands, 9: 61-62. Edinburgh.
- Laorga Sánchez, S. (1986): Estudio de la flora y vegetación de las comarcas toledanas del tramo central de la cuenca del Tajo. Tesis Doctoral inédita. Departamento de Biología Vegetal II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.
- Loidi, J., I. Biurrun & M. Herrera (1997): La vegetación del centro-septentrional de España. *Itinera Geobotanica* 9: 161-618.
- López González, G. (1977): Contribución al conocimiento fitosociológico de la serranía de Cuenca II. Comunidades herbáceas. *Anales Inst. Bot. Cavanilles* 34 (2): 597-702. (Effect. publ.: 12.1978).
- Muñoz Jiménez, J. (1977): El Paisaje natural de Toledo. In: Martínez de Pisón, E. (Coord). Los paisajes naturales de Segovia, Ávila, Toledo y Cáceres. Estudio Geográfico. *Instituto de Estudios de Administración Local Madrid*. 251 pp.
- Pascual, P. (1986): Datos para el estudio de la flora higrófila de la provincia de Guadalajara. *Trab. Dep. Botánica y F. Veg.* 13: 73-75.
- Pérez Latorre, A. V., P. Navas, D. Navas, Y. Gil & B. Cabezudo (1998): Datos sobre la flora y vegetación de la serranía de Ronda (Málaga, España). *Acta Bot. Malacitana* 23: 149-191.
- Pignotti, L. (2003): *Scirpus* L. and related genera (*Cyperaceae*) in Italy. *Webbia* 58 (2): 281-400.
- Rivas Goday (1964): Vegetación y Flórula de la cuenca extremeña del Guadiana. *Excma. Diputación Provincial de Badajoz*. 777pp.
- Rivas Goday, S. & J. Borja (1961): Estudio de la vegetación y flórula del macizo de Gúdar y Jabalambre. *Anales Inst. Bot. Cavanilles* 19: 1-550. (Effect. publ.: 10.1961).
- Rivas-Martínez, S. (2006): Worldwide Bioclimatics Classification System. January 2006 version. <http://www.globalbioclimatics.org>.
- Rivas-Martínez, S. (2007): Mapa de series, geoseries y geopermaseries de vegetación de España. Memoria del mapa de vegetación potencial de España. Parte I. *Itinera Geobotanica* 17. 435 pp.
- Rivas-Martínez, S., M. Costa, S. Castroviejo & E. Valdés-Bermejo (1980): Vegetación de Doñana (Huelva, España). *Lazaroa* 2: 5-189.
- Rivas-Martínez, S. & P. Cantó (1987): Datos sobre la vegetación de las sierras de Guadarrama y Malagón. *Lazaroa* 7: 235-257.
- Rivas-Martínez, S., F. Fernández-González, D. Sánchez-Mata & J. M. Pizarro (1990): Vegetación de la sierra de Guadarrama. *Itinera Geobotanica* 4: 3-132.
- Rivas-Martínez, S., T. E. Díaz, F. Fernández-González, J. Izco, J. Loidi, M. Lousã & A. Penas (2002): Vascular plant communities of Spain and Portugal. Addenda to the syntaxonomical checklist of 2001, part I & part II. *Itinera Geobotanica* 15 (1): 5-432 y 15(2): 433-922.
- Sardinero, S. (2004): Flora y vegetación del macizo occidental de la sierra de Gredos (Sistema Central, España). *Guineana* 10: 1- 474.
- Talavera, S. & B. Valdés (1976): Revisión del género *Cirsium* (Compositae) en la Península Ibérica. *Lagascalia* 5 (2): 127-223.
- Tchou, Y.- Tch. (1948): Études écologiques et phytosociologiques sur les forêts riveraines du Bas-Languedoc (*Populetum albae*). *Vegetatio* 1 (1): 2-28.
- Tutin, T. G., V. H. Heywood, N. A. Burges, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters & D. A. Webb (1946-80): Flora Europaea, vol I- V. Cambridge University, Press. Cambridge.

- Valdés, E., S. Talavera & E. Fernández Galiano (1987): Flora vascular de Andalucía Occidental. Vol. I, II y III. Barcelona.
- Valle Gutiérrez, C. J. & A. L. Gutiérrez Balbas (1991): Notas sobre la vegetación hidrófila de la cuenca del Duero. *Studia Bot.* 10: 11-16.
- Vázquez González, A., I. Asensio Amor & J. A. González (1998): La Meseta toledana y el valle medio del Tajo. In: Guía de Castilla La Mancha, 740 pp: 377-398. *Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha*, 4ª ed. Toledo.
- Velasco Negueruela, A., N. Marcos Samaniego & S. Pajaron Sotomayor (1986): Contribución al estudio del paisaje vegetal en los Montes de Toledo: los valles del Estena, Chorro y Frío en sus cabeceras. *Trab. Dep. Botánica y F. Veg.* 13: 77-82.
- Vicioso, C. (1959): Estudio monográfico sobre el género *Carex* en España. *Inst. Fores. Inv. Exp.* 30 (79). Madrid.

# Anexo I: CONSIDERACIONES TAXONÓMICAS SOBRE *SCIRPOIDES HOLOSCHOENUS* (L.) SOJÁK

Una de las primeras cuestiones que se presentaron al comenzar este estudio es aquella relacionada con la nomenclatura y taxonomía de la especie dominante de las comunidades vegetales estudiadas, *Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják, conocido comúnmente como Junco churrero.

Tradicionalmente esta especie ha sido denominada como *Scirpus holoschoenus* L., e incluso como alguno de sus numerosos sinónimos, como por ejemplo, *Holoschoenus vulgaris* Link o *Isolepis holoschoenus* (L.) Roem. & Schult. En la actualidad, la mayoría de las opiniones científicas (KIT TAN ex. TUTIN *et al.*, 1985; BOLÓS *et al.*, 1990; PIGNOTTI, 2003; CASTROVIEJO *et al.*, 2008) confluyen en situarla dentro del género monoespecífico *Scirpoides*.

Esta tendencia relativamente reciente tiene su base en las diferencias existentes entre ambos géneros, *Scirpus* y *Scirpoides*, algunas de las cuales quedan recogidas en la siguiente tabla (PIGNOTTI, 2003; CASTROVIEJO *et al.*, 2008):

	<i>Scirpus</i> L.	<i>Scirpoides</i> Ség.
Rizoma	6-7 entrenudos ± largos	5-7 entrenudos cortos y uno superior alargado
Tallo	Simple, trigono. 5-12 dm, 3-6 mm diam. Liso o algo escábrido en el eje bajo la inflorescencia. Basales y caulinares. Planas o aquilladas. <u>Vaina</u> de hasta 6 cm; cubren los ¾ inferiores del tallo; verdes; con una porción escariosa ventral, distal de 1-3 cm.	Simple, de sección circular. 2-15 dm, 1,5-8 mm diam. Liso o semicilíndrico y escábrido en el eje bajo la inflorescencia. Basales. Reducidas a una <u>vaina</u> de hasta 15 cm, con un margen casi horizontal a oblicuo, abierto en la madurez por una sutura ventral que permanece como una fibra conectada por venas a la vaina.
Hoja	<u>Lígula</u> 0,3-1,5 cm, entera y profundamente arqueada. <u>Limbo</u> con forma de V; verde; desde unos pocos cm en las hojas basales hasta 70 cm x 4-16 mm en las hojas medias.	<u>Líguas</u> casi ausentes. <u>Limbo</u> desde ausente hasta casi tan largo como el tallo, verde, semicilíndrico, acuminado y con márgenes escábridos.
Inflorescencia	Terminal, en antela compuesta subumbelada o corimboso-paniculada. 7-20 cm diam.	Pseudolateral, antela simple o compuesta; formada por glomérulos de espiguillas, globosos, en número variable, sésiles o pedunculados. Cabezas de 3-15 mm diam.
Brácteas	3 a 5. Foliosas, de tamaño decreciente a medida que se alejan de la base. La inferior con base ensanchada.	1 o 2. La inferior de sección circular, frecuentemente erecta, aparentando ser una prolongación del tallo. 1-40 cm.
Espiguillas	Ovoides a lanceoladas. 2-6 x 1,5 mm. Al menos 100 por inflorescencia. Con sección circular.	Ovoides. 4-6 x 2,5-3,5 mm. Muy numerosas en cada glomérulo.
Glumas	1,3-2 x 0,6-1,5 mm. Ovadas. Negruzcas con el nervio medio verde. Con un margen ± hialino, mucronato	1,5-2 x 1-1,5 mm. Ovado-truncadas, cimbiformes, mucronadas (mucrón de 0,1-0,2

	o místico. Disposición helicoidal.	mm), marrón rojizo. Con margen hialino estrecho y dentado-ciliado
	Hermafroditas. Perianto formado por 5-6 cerdas escábridas.	Hermafroditas. Sin perianto.
Flores	<u>Estambres</u> 3. Anteras de 0,6-1 mm, con ápice obtuso, glabro de 0,1 mm.	<u>Estambres</u> 3. Anteras de 1,2-1,5 mm, con ápice agudo de 0,2-0,3 mm.
	<u>Estilo</u> (0,3-0,7 mm) con 3 estigmas (0,7-0,9 mm) densamente papilosos.	<u>Estilo</u> (0,7-0,8 mm) con 3 estigmas (1-1,5 mm) densamente papilosos.
	Aquenio obovoide, trigono.	Aquenio obovoide, trigono a subtrigono.
Fruto	0,9-1,1 x 0,5 mm. Blanco apagado. Mucronado (0,1 mm). Com la base del estilo persistente, en forma de columna corta.	1,1-1,3 x 0,6-0,7 mm. Gris oscuro. Finamente reticulado. Mucronado (0,1-0,15 mm), con la base del estilo persistente (0,05 mm).

TABLA 2: Diferencias entre los géneros *Scirpus* L. y *Scirpoides* Ség.

Teniendo en cuenta estos caracteres, para este trabajo se ha considerado que las diferencias entre ambos géneros son tales que se acepta la pertenencia de la especie al género *Scirpoides* Ség. y no *Scirpus* L.

Aclarado este punto, se presenta una nueva cuestión a nivel de la existencia de diferentes subespecies, dada la variabilidad que se observa en los individuos estudiados. Siendo éste un aspecto en el cual existen también muchas opiniones, se ha seguido en este caso a RIVAS-MARTÍNEZ *et al.*, 2002, que considera las siguientes subespecies:

- *S. holochoenus* (L.) Soják subsp. *holoschoenus*. Planta robusta con numerosos tallos, generalmente de más de 60 cm, de 3-6 mm de diametro en la parte inferior. Inflorescencia con (3)7-10(40) glomérulos, los más gruesos pudiendo llegar a (7)8-10 mm de diámetro. Limbo de las hojas basales generalmente corto (3-5 cm). Indiferente edáfico.
- *S. holochoenus* subsp. *australis* (Murray) Soják. Planta más baja, generalmente de menos de 60 cm, con tallos generalmente poco numerosos y de 1-2 mm de diámetro en la parte inferior. Inflorescencia con 1-3(5) glomérulos, los más gruesos de 5-7(9) mm de diámetro. Hojas basales con limbo largo (10-20 cm de longitud). Fundamentalmente en suelos con carácter ácido.

Si bien, actualmente, se considera únicamente la opinión de RIVAS-MARTÍNEZ *et al.*, 2002 como criterio taxonómico, se está realizando en la actualidad una observación de un número suficiente de individuos procedentes de todas las localidades estudiadas con el fin de esclarecer la taxonomía de *S. holochoenus* y sus subespecies.

**Anexo II: DATOS BIBLIOGRÁFICOS sobre las comunidades de *Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják en el tramo medio de la cuenca del río Tajo.**

Nº de Especies:	15	43	48	31	28	48	48	32
Nº de Inventarios:	2	10	14	5	3	8	7	5
Nº de Orden:	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Características de Brizo-Holoschoenenion:</b>								
<i>Galium debile</i>	.	.	.	.	.	II	.	.
<b>Características de Molinio-Holoschoenenion:</b>								
<i>Cirsium monspessulanum</i>	2	IV	I	.	.	.	.	.
<i>Carex mairii</i>	2	.	.	.	.	.	.	.
<i>Lysimachia ephemerum</i>	2	.	.	.	.	.	.	.
<i>Cochlearia glastifolia</i>	.	.	I	.	.	.	.	.
<i>Hypericum tomentosum</i>	.	.	.	.	2	.	.	.
<b>Características de Molinio-Holoschoenenion:</b>								
<i>Senecio doria</i>	2	I	.	.	.	.	.	.
<i>Scrophularia balbisii</i> subsp. <i>valentina</i>	.	.	I	.	.	.	.	.
<i>Linum tenue</i>	.	.	.	I	.	.	.	.
<i>Thalictrum speciosissimum</i>	.	.	.	I	.	.	.	.
<i>Ranunculus bulbosus</i> subsp. <i>aleae</i>	.	.	.	.	.	II	.	.
<b>Características de Holoschoenetalia vulgaris:</b>								
<i>Scirpoides holoschoenus</i>	2	V	V	V	2	V	V	V
<i>Cirsium pyrenaicum</i> var. <i>longespinosum</i>	.	I	.	.	.	.	.	.
<i>Oenanthe pimpinelloides</i>	.	.	.	.	.	II	.	.
<b>Características de Molinio-Arrhenatheretea y unidades inferiores:</b>								
<i>Mentha suaveolens</i>	2	I	I	II	2	II	.	I
<i>Juncus inflexus</i>	2	.	I	I	2	II	.	IV
<i>Cyperus longus</i> subsp. <i>badius</i>	.	.	I	II	1	III	I	II
<i>Holcus lanatus</i>	.	I	.	I	.	III	II	IV
<i>Verbena officinalis</i>	.	III	III	I	.	.	III	.
<i>Hypochoeris radicata</i>	.	I	.	.	.	II	II	IV
<i>Agrostis stolonifera</i>	1	IV	.	.	.	II	.	.
<i>Potentilla reptans</i>	1	I	I	.	.	.	.	.
<i>Trifolium pratense</i>	.	II	I	I	.	.	.	.
<i>Oenanthe lachenalii</i>	.	II	II	.	1	.	.	.
<i>Senecio jacobea</i>	.	.	.	.	1	II	IV	.
<i>Plantago lanceolata</i>	.	.	.	.	.	III	III	III
<i>Cynodon dactylon</i>	.	.	.	.	.	I	IV	IV
<i>Juncus effusus</i>	.	.	.	.	.	II	II	I
<i>Arrhenatherum elatius</i> subsp. <i>bulbosum</i>	.	.	.	.	.	I	II	I
<i>Poa trivialis</i>	1	.	II	.	.	.	.	.
<i>Lactuca saligna</i>	.	II	I	.	.	.	.	.
<i>Phalaris coerulescens</i>	.	.	.	.	1	II	.	.
<i>Poa trivialis</i> subsp. <i>sylvicola</i>	.	.	.	.	2	III	.	.
<i>Crepis capillaris</i>	.	.	.	.	.	I	I	.
<i>Rumex crispus</i>	.	.	.	.	.	I	I	.
<i>Dactylis glomerata</i>	.	.	.	.	.	.	III	III
<i>Chamaemelum nobile</i>	.	.	.	.	.	.	I	I
<i>Phleum pratense</i> subsp. <i>serotinum</i>	1	.	.	.	.	.	.	.
<i>Carex flacca</i>	2	.	.	.	.	.	.	.
<i>Lotus pedunculatus</i>	.	II	.	.	.	.	.	.
<i>Plantago major</i>	.	II	.	.	.	.	.	.
<i>Carex distans</i>	.	I	.	.	.	.	.	.
<i>Juncus articulatus</i>	.	I	.	.	.	.	.	.
<i>Trifolium repens</i>	.	I	.	.	.	.	.	.
<i>Trifolium lappaceum</i>	.	.	.	.	2	.	.	.

<i>Carex divisa</i>	.	.	.	.	1	.	.	.
<i>Rumex conglomeratus</i>	.	.	.	.	.	III	.	.
<i>Carum verticillatum</i>	.	.	.	.	.	II	.	.
<i>Achillea millefolium</i>	.	.	.	.	.	.	III	.
<i>Lotus corniculatus</i> subsp. <i>corniculatus</i>	.	.	.	.	.	.	II	.
<i>Juncus conglomeratus</i>	.	.	.	.	.	.	I	.
<i>Lolium perenne</i>	.	.	.	.	.	.	I	.
<i>Festuca arundinacea</i>	.	.	.	.	.	.	I	.
<i>Trifolium dubium</i>	.	.	.	.	.	.	I	.
<i>Cynosurus cristatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	III
<i>Deschampsia cespitosa</i> subsp. <i>hispanica</i>	.	.	.	.	.	.	.	II
<b>Compañeras:</b>								
<i>Convolvulus arvensis</i>	.	I	I	I	1	.	III	III
<i>Daucus carota</i>	.	II	I	I	.	.	IV	IV
<i>Althaea officinalis</i>	.	III	III	II	.	.	.	.
<i>Cirsium arvense</i>	.	II	II	II	.	.	.	.
<i>Cichorium intybus</i>	.	I	I	I	.	.	.	.
<i>Picris echioides</i>	.	I	I	I	.	.	.	.
<i>Ditrichia viscosa</i>	.	I	.	.	2	II	.	.
<i>Melica ciliata</i> subsp. <i>magnolii</i>	.	.	I	I	.	IV	.	.
<i>Juncus acutus</i>	.	.	III	III	3	.	.	.
<i>Festuca ampla</i>	.	.	.	.	.	IV	V	III
<i>Bromus hordeaceus</i>	.	.	.	.	.	III	I	II
<i>Samolus valerandi</i>	1	I	.	.	.	.	.	.
<i>Epilobium hirsutum</i>	2	.	.	I	.	.	.	.
<i>Briza media</i>	1	.	.	.	.	.	I	.
<i>Juncus maritimus</i>	.	I	I	.	.	.	.	.
<i>Cirsium vulgare</i>	.	II	III	.	.	.	.	.
<i>Brachypodium phoenicoides</i>	.	II	I	.	.	.	.	.
<i>Calystegia sepium</i>	.	I	I	.	.	.	.	.
<i>Dipsacus sylvestris</i>	.	.	II	I	.	.	.	.
<i>Silybum marianum</i>	.	.	I	I	.	.	.	.
<i>Aristolochia paucineris</i>	.	.	I	.	.	II	.	.
<i>Scolymus hispanicus</i>	.	.	I	.	.	.	I	.
<i>Rumex pulcher</i>	.	.	.	II	2	.	.	.
<i>Flueggea tinctoria</i>	.	.	.	II	.	I	.	.
<i>Dactylis hispanica</i>	.	.	.	I	.	III	.	.
<i>Delphinium gracile</i>	.	.	.	I	.	I	.	.
<i>Gaudinia fragilis</i>	.	.	.	.	2	IV	.	.
<i>Briza minor</i>	.	.	.	.	2	III	.	.
<i>Campanula rapunculus</i>	.	.	.	.	.	II	I	.
<i>Linum trigynum</i>	.	.	.	.	.	I	II	.
<i>Agrostis pourretii</i>	.	.	.	.	.	II	.	I
<i>Agrostis castellana</i>	.	.	.	.	.	.	V	V
<i>Rumex papillaris</i>	.	.	.	.	.	.	II	III
<i>Hieracium pilosella</i>	.	.	.	.	.	.	II	II
<i>Carex leporina</i>	.	.	.	.	.	.	I	I
<i>Vulpia bromoides</i>	.	.	.	.	.	.	I	II
<i>Phragmites australis</i>	.	IV	.	.	.	.	.	.
<i>Sonchus maritimus</i> subsp. <i>aquatilis</i>	.	IV	.	.	.	.	.	.
<i>Carex hispida</i>	.	II	.	.	.	.	.	.
<i>Dorycnium gracile</i>	.	II	.	.	.	.	.	.
<i>Carduus bourgeanus</i>	.	.	II	.	.	.	.	.
<i>Lavatera triloba</i>	.	.	II	.	.	.	.	.
<i>Rosa agrestis</i>	.	.	II	.	.	.	.	.
<i>Asparagus acutifolius</i>	.	.	I	.	.	.	.	.
<i>Bryonia cretica</i> subsp. <i>dioica</i>	.	.	.	II	.	.	.	.
<i>Ammi majus</i>	.	.	.	.	3	.	.	.
<i>Vulpia geniculata</i>	.	.	.	.	3	.	.	.
<i>Galactites tomentosa</i>	.	.	.	.	2	.	.	.



<i>Pallenis spinosa</i>	.	.	.	.	2	.	.	.
<i>Sonchus asper</i>	.	.	.	.	2	.	.	.
<i>Sonchus asper</i> subsp. <i>glaucescens</i>	.	.	.	.	2	.	.	.
<i>Trifolium squamosum</i>	.	.	.	.	2	.	.	.
<i>Asphodelus aestivus</i>	.	.	.	.	.	IV	.	.
<i>Carex divisa</i> subsp. <i>chaetophylla</i>	.	.	.	.	.	IV	.	.
<i>Trifolium resupinatum</i>	.	.	.	.	.	IV	.	.
<i>Oenanthe crocata</i>	.	.	.	.	.	III	.	.
<i>Gladiolus illyricus</i>	.	.	.	.	.	II	.	.
<i>Anthoxanthum aristatum</i>	.	.	.	.	.	.	III	.
<i>Carex muricata</i> subsp. <i>lamprocarpa</i>	.	.	.	.	.	.	III	.
<i>Hypericum perforatum</i>	.	.	.	.	.	.	III	.
<i>Vicia lutea</i>	.	.	.	.	.	.	III	.
<i>Galium verum</i>	.	.	.	.	.	.	II	.
<i>Trifolium angustifolium</i>	.	.	.	.	.	.	II	.
<i>Trifolium campestre</i>	.	.	.	.	.	.	II	.
<i>Ctenopsis delicatula</i>	.	.	.	.	.	.	.	II
<i>Danthonia decumbens</i>	.	.	.	.	.	.	.	II
<i>Nardus stricta</i>	.	.	.	.	.	.	.	II
<i>Petrorhagia nanteuillii</i>	.	.	.	.	.	.	.	II

Además: *Centaureum spicatum*: I en 2; *Equisetum ramosissimum*: I en 2; *Festuca interrupta*: I en 2; *Linum maritimum*: I en 2; *Medicago lupulina*: I en 2; *Mentha aquatica*: I en 2; *Odontites vernus* subsp. *serotinus*: I en 2; *Ononis spinosa*: I en 2; *Althaea cannabina*: I en 3; *Ammi visnaga*: I en 3; *Anchusa italica*: I en 3; *Atriplex patula*: I en 3; *Centaureum pulchellum*: I en 3; *Nepeta cataria*: I en 3; *Onopordum nervosum*: I en 3; *Picnemon acarna*: I en 3; *Polypogon monspeliensis*: I en 3; *Sambucus ebulus*: I en 3; *Schoenoplectus lacustris* subsp. *tabernaemontani*: I en 3; *Torilis arvensis* subsp. *neglecta*: I en 3; *Ulmus minor* pl.: I en 3; *Verbascum sinuatum*: I en 3; *Allium vineale*: I en 4; *Galium palustre*: I en 4; *Galium aparine*: I en 4; *Osyris alba*: I en 4; *Urtica dioica*: I en 4; *Alisma lanceolatum*: 1 en 5; *Ornithogalum narbonense*: 1 en 5; *Rumex patientia*: 1 en 5; *Vicia benghalensis*: 1 en 5; *Glyceria declinata*: I en 6; *Hordeum hystrix*: I en 6; *Hordeum murinum*: I en 6; *Iris lusitanica*: I en 6; *Lepidium heterophyllum*: I en 6; *Lolium rigidum*: I en 6; *Orchis morio* subsp. *champagneuxii*: I en 6; *Rumex acetosella* subsp. *angiocarpus*: I en 6; *Vicia parviflora*: I en 6; *Agrimonia eupatoria*: I en 7; *Allium guttatum* subsp. *sardoum*: I en 7; *Bupleurum gerardi* subsp. *filicaule*: I en 7; *Festuca rothmaleri*: I en 7; *Filago lutescens*: I en 7; *Medicago sativa*: I en 7; *Melilotus albus*: I en 7; *Poa compressa*: I en 7; *Juncus squarrosus*: I en 8; *Mentha cervina*: I en 8; *Taeniatherum caput-medusae*: I en 8; *Verbascum pulverulentum*: I en 8.

Procedencia de las distintas columnas: 1. *Lysimachio ephemeri-Holoschoenetum* Rivas Goday & Borja 1961 (FUENTE, 1985); 2. *Holoschoenetum vulgaris* Br.-Bl. ex Tchou 1948 (CIRUJANO, 1981, sub *Cirsio-Holoschoenetum* Br.-Bl. 1931); 3. *Holoschoenetum vulgaris* Br.-Bl. ex Tchou 1948 (LAORGA, 1986, sub *Cirsio-Holoschoenetum* Br.-Bl. 1931); 4. *Holoschoeno-Juncetum acuti* Rivas-Martínez & Costa in Rivas-Martínez et al 1980 (LAORGA, 1986); 5. *Holoschoeno-Juncetum acuti* Rivas-Martínez & Costa in Rivas-Martínez et al 1980 (BELMONTE, 1986); 6. *Trifolio resupinati-Holoschoenetum* Rivas Goday 1964 (BELMONTE, 1986); 7. *Trifolio resupinati-Holoschoenetum* Rivas Goday 1964 (FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, 1988); 8. *Trifolio resupinati-Holoschoenetum* Rivas Goday 1964 (SARDINERO, 2004).

NOTA: Dado que para este trabajo no fue posible comprobar la subespecie que estaba presente en cada localidad de las seleccionadas, en el análisis de los datos bibliográficos se consideró la especie dominante (*Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják) como tal, sin tener en cuenta sus subespecies.

### Anexo III: INVENTARIOS EXPERIMENTALES realizados en el tramo medio de la cuenca del Tajo.

Altitud (m)	57	60	57	56	54	54	67	83	61	58	54	84	97	97	97	97	97	61	62	62	75	127	126	98	95	98	100	60	66	66	86	85	85
Superficie (m²)	50	50	50	20	20	30	30	30	100	50	20	20	30	40	20	20	20	30	30	30	50	50	50	20	50	60	60	30	40	40	30	20	30
Nº de especies	5	20	17	6	13	14	22	16	37	26	14	18	13	19	19	16	17	8	13	11	12	15	18	11	16	15	14	12	10	11	24	16	15
Nº de inventario	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
<b>Características de <i>Brizo-Holoschoenenion</i>:</b>																																	
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	3	5	3	5	5	5	4	5	5	5	5	3	4	3	2	5	4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<b>Características de <i>Molinio-Holoschoenenion</i>:</b>																																	
<i>Cirsium monspessulanum</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	2	.	2	3	2	.	.	.	1	.	2	.	2	+
<i>Carex mairii</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	.
<b>Características de <i>Molinio-Holoschoenion vulgaris</i>:</b>																																	
<i>Scrophularia balbisii</i> subsp. <i>valentina</i>	.	.	.	.	.	.	r	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	r	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Festuca fenas</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	.
<i>Senecio doria</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	.	.	.	.
<i>Linum tenue</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Sonchus maritimus</i> subsp. <i>aquatilis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<b>Características de <i>Holoschoenetalia vulgaris</i>:</b>																																	
<i>Scirpoides holoschoenus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	4	4	4	4	4	4	4	3	5	4	5	5	5	4	3	5
<i>Cirsium pyrenaicum</i> var. <i>pyrenaicum</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	+	.	.	.	3	.	.	1	.	.	.	.	+	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.
<i>Phalaris aquatica</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	3	.	.	.	.	.	.
<b>Características de <i>Molinio-Arrhenatheretea</i> y unidades inferiores:</b>																																	
<i>Juncus inflexus</i>	.	.	.	.	3	1	.	2	1	.	+	.	+	.	+	.	.	.	.	.	.	2	2	.	3	(+)	2	.	.	.	+	+	+
<i>Poa trivialis</i>	.	.	+	.	.	1	.	+	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	1	1	.	1	1	1	.	.	.	+	+	+
<i>Verbena officinalis</i>	.	.	1	.	.	.	1	+	1	2	.	.	.	.	+	.	.	.	+	r	1	.	.	.	.	.	+	.	.	.	+	.	+
<i>Holcus lanatus</i>	.	.	.	.	.	2	2	1	+	.	.	.	.	+	+	+	1	.	.	.	.	+	.	.	+	(+)	.	.	.	.	+	.	.
<i>Mentha suaveolens</i>	.	.	+	.	1	3	+	1	1	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	2	.	.	+	.	.
<i>Senecio jacobea</i>	.	.	.	.	.	.	1	.	+	1	.	+	+	+	.	+	+	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Potentilla reptans</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	+	+	.	.	.	+	1	+	+	+
<i>Trifolium pratense</i>	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	+	.	(+)	1	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	+
<i>Cyperus longus</i> subsp. <i>badius</i>	.	.	1	.	.	+	.	1	2	.	.	+	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.
<i>Juncus acutiflorus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	(+)	(+)	.	+	1	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	+	.	.
<i>Ranunculus repens</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	+	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	(+)	+	+
<i>Lotus corniculatus</i> subsp. <i>corniculatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	(+)	+	+





Además: *Carthamus lanatus*: 1 en 2; *Cynosurus echinatus*: 1 en 2; *Bromus diandrus*: + en 2; *Bromus lanceolatus*: + en 2; *Daphne gnidium*: + en 2; *Mantisalca salmantica*: + en 2; *Ononis spinosa*: + en 2; *Saponaria officinalis*: + en 2; *Equisetum telmateia*: 1 en 3; *Bromus squarrosus*: + en 3; *Marrubium vulgare*: 1 en 5; *Retama sphaerocarpa*: + en 5; *Bellardia trixago*: 1 en 7; *Trifolium campestre*: 1 en 7; *Trifolium angustifolium*: + en 7; *Trifolium spumosum*: + en 7; *Carduus bourgeanus*: 1 en 8; *Taeniatherum caput-medusae*: + en 8; *Hypericum perforatum*: + en 9; *Oenanthe crocata*: + en 9; *Verbascum rotundifolium* subsp. *hanseleri*: r en 9; *Leontodon rongirrostis*: + en 10; *Silene latifolia*: + en 10; *Foeniculum vulgare*: + en 11; *Holcus setiglimis*: 1 en 12; *Campanula lusitanica*: + en 12; *Geranium lucidum*: + en 12; *Trifolium resupinatum*: + en 12; *Brassica barrelieri*: (+) en 12; *Hieracium pilosella*: + en 14; *Vicia sativa*: + en 15; *Asphodelus aestivus*: + en 16; *Mentha cervina*: 1 en 17; *Althaea cannabina*: 1 en 18; *Asparagus officinalis*: + en 18; *Juncus maritimus*: + en 19; *Bryonia cretica* subsp. *dioica*: + en 20; *Silene vulgaris*: + en 20; *Cirsium arvense*: + en 23; *Verbascum pulverulentum*: r en 23; *Salix purpurea*: + en 24; *Allium roseum*: (+) en 26; *Brachypodium sylvaticum*: (+) en 26; *Humulus lupulus*: + en 28; *Rubia tinctorum*: + en 28; *Conium maculatum*: + en 29; *Lamium purpureum*: + en 29; *Cynoglossum cheirifolium*: + en 30; *Lythrum salicaria*: 1 en 31.

213

## Anexo IV: BIOMASA VEGETAL

Espece Vegetal	Pelayos de la Presa	Chapinería	Colmenar del Arroyo
<i>Scirpoides holoschoenus</i>	2321,00	2349,00	2141,00
<i>Convolvulus arvensis</i>	12,17	0,034	6,73
<i>Galium aparine</i>	13,25	24,48	-
<i>Veronica hederifolia</i>	-	0,029	0,157
<i>Equisetum arvense</i>	44,60	-	-
<i>Calystegia sepium</i>	17,80	-	-
<i>Melica ciliata subsp. magnolii</i>	4,62	-	-
<i>Holcus lanatus</i>	0,467	-	-
<i>Scrophularia balbisii subsp. valentina</i>	-	38,98	-
<i>Mentha suaveolens</i>	-	6,51	-
<i>Galium aparinella</i>	-	0,917	-
<i>Holcus setiglumis</i>	-	-	81,14
<i>Agrostis castellana</i>	-	-	22,64
<i>Arrhenatherum bulbosum</i>	-	-	0,475
<i>Bromus hordeaceus</i>	-	-	0,243
<i>Geranium lucidum</i>	-	-	0,134
<i>Gaudinia fragilis</i>	-	-	0,067
<i>Crepis capillaris</i>	-	-	0,019

Medida correspondiente a Junio/ 2008. Los datos de peso seco se expresan en gr.





## Apéndice 2 / Appendix 2

Fotografía: Chapinería (Madrid).

Ana I. Sánchez García-Madrid

# Relaciones entre los parámetros físico-químicos del suelo y la vegetación en juncuales de *Scirpoides holoschoenus*

Ana S. García-Madrid (\*), José Antonio Molina (\*), Miguel Angel Casermeiro (\*\*), M<sup>a</sup> Teresa de la Cruz (\*\*) & Paloma Cantó (\*)

**Resumen:** García-Madrid, A.S., Molina, J.A., Casermeiro, M.A., de la Cruz, M.T. & Cantó, P. *Relaciones entre los parámetros físico-químicos del suelo y la vegetación en los juncuales de Scirpoides holoschoenus*. *Lazaroa* 31: 99-107 (2010).

Se ha llevado a cabo un estudio de la diversidad de juncuales caracterizados por *Scirpoides holoschoenus* en la zona centro de la Península Ibérica (cuencas media y alta del río Tajo). Este estudio se basa en 54 inventarios fitosociológicos recogidos de la bibliografía y en 17 muestreos propios en los que se analizó la composición florística de la vegetación y los principales parámetros físico-químicos de los suelos. Los análisis numéricos muestran por una parte la existencia de 4 asociaciones en el centro peninsular: *Holoschoenetum vulgaris*, *Lysimachio ephemeri-Holoschoenetum*, *Holoschoeno-Juncetum acuti* y *Trifolio resupinati-Holoschoenetum*. Por otra, confirman la existencia de dos grandes grupos de juncuales de *Scirpoides holoschoenus* en el centro peninsular en función del contenido en iones solubles: los calcícolas y los silícícolas. La incierta adscripción del juncal subhalófilo a uno u otro grupo sugiere la posibilidad de la existencia de varias unidades dentro de ellos.

**Palabras clave:** Juncuales, río Tajo, vegetación, parámetros edáficos.

**Abstract:** García-Madrid, A.S., Molina, J.A., Casermeiro, M.A., de la Cruz, M.T. & Cantó, P. *Relationships between physico-chemical soil features and vegetation in the Scirpoides holoschoenus rushes*. *Lazaroa* 31: 99-107 (2010).

A study of *Scirpoides holoschoenus* rushes was carried out in the centre of the Iberian Peninsula. This study was based on 54 phytosociological relevés collected from the literature, and on 17 of our own surveys in which we analyze the species composition of vegetation and the main physico-chemical soil parameters. Numerical analysis shows the existence of four associations: *Holoschoenetum vulgaris*, *Lysimachio ephemeri-Holoschoenetum*, *Holoschoeno-Juncetum acuti* and *Trifolio resupinati-Holoschoenetum*. In addition, we confirm the existence of two groups of *Scirpoides holoschoenus* rushes in the central Iberian peninsula based on the soil soluble-ion content, whether calcareous or silicicolous. The uncertain adscription of sub-halophilous rushes to one or another group suggests that several units may exist within them.

**Keywords:** Rush meadows, Tagus River, vegetation, soil parameters.

## INTRODUCCIÓN

Los juncuales de junco churrero, *Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják constituyen prados húmedos de hierbas altas que alcanzan una gran importancia en el paisaje mediterráneo (RIVAS-MARTÍNEZ & *al.*, 1980; BERNÁLDEZ, 1988), donde forman parte de las

series de vegetación de diferentes bosques riparios, indican sistema de descarga de acuíferos y representan un agostadero natural (RIVAS-MARTÍNEZ, 1982; BERNÁLDEZ & *al.*, 1989). Están compuestos preferentemente por especies herbáceas hemicriptofíticas, con abundancia de ciperáceas, gramíneas, juncáceas y leguminosas. Los juncuales churreros requieren un

\* Departamento de Biología Vegetal II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. Pza. Ramón y Cajal s/n. 28040-Madrid. España. E-mail: cantora@farm.ucm.es

\*\* Departamento de Edafología. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. Pza. Ramón y Cajal s/n. 28040-Madrid. España.





## Apéndice 3 / Appendix 3

Fotografía: Navas del Rey (Madrid).

Álvaro Nicolás Diez



# Búsqueda de marcadores moleculares de utilidad filogenética en el género *Scirpoides* Ség.(*Cyperaceae*): el grupo *S. holoschoenus* (L.) Soják como caso de estudio



Ana I. Sánchez García-Madrid

**Directores:** Paloma Cantó Ramos y  
José Antonio Molina Abril



## Índice

Introducción y Objetivo .....	3
Material y Métodos .....	6
Resultados .....	10
Discusión y Conclusiones .....	18
Referencias .....	21

## Resumen

La familia *Cyperaceae* se caracteriza presentar una morfología floral muy reducida y condensada que puede conducir a diferentes interpretaciones u homologías inciertas a la hora de clasificarla. Uno de los géneros que presenta gran confusión taxonómica en la literatura es *Scirpoides* Ség., que deriva del amplio género *Scirpus* L.. Clasificaciones recientes que combinan caracteres morfológicos con secuencias cloroplásticas ubican el género en la tribu *Cypereae* y más concretamente en el clado *Ficinia*, formado por los géneros *Ficinia*, *Isolepis*, *Hellmuthia*, *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus* y *Scirpoides*. De todas las especies reconocidas en las diferentes clasificaciones, *Scirpoides holoschoenus* es el taxon que presenta mayor variabilidad infraespecífica, en especial dentro de la cuenca mediterránea s.l.. En este estudio se ha investigado la variabilidad molecular de 12 regiones nucleares y cloroplásticas con el fin de seleccionar marcadores que permitan resolver de forma satisfactoria las relaciones filogenéticas en el género *Scirpoides*. Para ello, se han seleccionado 15 individuos representativos de la variabilidad morfológica presente en el hemisferio norte. Las regiones ITS (nrDNA) y trnL (cpDNA) fueron las únicas que mostraron variabilidad entre los individuos de estudio pero mientras que ITS puede ser útil en el estudio filogenético del género, trnL no posee suficiente resolución para diferenciar los taxones circumediterráneos de *Scirpoides*. Los marcadores 5' trnK, trnH-psbA y trnL-F intergenic spacer –utilizados previamente en *Cyperaceae*– y 3' trnK, ycf6F-psbMR y trnCF-ycf6R –no utilizados previamente en *Cyperaceae*– no mostraron variabilidad mientras que las regiones trnT-trnL, rpS4R2-trnTR y psbJ-petA no amplificaron con las condiciones probadas. La región nuclear ETS no amplificó en este trabajo pero sería conveniente un estudio más exhaustivo debido que existen evidencias de que podría ser útil en *Scirpoides*.

## Introducción y Objetivo

La familia *Cyperaceae*, de distribución subcosmopolita, comprende 109 géneros y unas 5.500 especies (Govaerts et al., 2007). Tiene representantes en diferentes ecosistemas y hábitats, desde la tundra hasta la selva tropical, aunque se encuentran con mayor frecuencia en humedales (Simpson et al., 1995). Gran número de especies tienen importancia económica, etnobotánica o en horticultura (Simpson & Inglis, 2001). *Cyperaceae* es una familia monocotiledónea que se caracteriza por una reducción extrema en la morfología floral, con flores unisexuales o hermafroditas, poco vistosas, sentadas en las axilas de brácteas escuamiformes (glumas), que se disponen de forma helicoidal o dística formando espiguillas (Castroviejo et al., 2008).

En *Cyperaceae*, la mayoría de los géneros con menor número de especies derivan de géneros mayores, a partir de uno o varios rasgos distintivos (Muasya et al., 2009b). *Scirpoides* Ség., es uno de estos géneros con menor número de especies, que, en su caso, deriva del amplio género *Scirpus* L. El género *Scirpoides* se caracteriza por presentar tallos de sección circular e inflorescencias generalmente pseudolaterales formadas por glomérulos de espiguillas, con glumas en disposición helicoidal y flores hermafroditas y sin perianto (Pignotti, 2003; Séguier, 1754).

Clasificaciones basadas en un amplio rango de caracteres morfológicos, anatómicos, embriológicos, fitoquímicos y fisiológicos han situado el género *Scirpoides* en la tribu *Scirpeae* (Bruhl, 1995; Goetghebeur, 1986). Sin embargo, estudios recientes que combinan dichos caracteres con secuencias cloroplásticas (Muasya et al., 2009a; Muasya et al., 2000a; Muasya et al., 2000b; Muasya et al., 1998) ubican el género en la tribu *Cypereae*, con la que comparte el embrión tipo *Cyperus* (Muasya et al., 2012; Van der Veken, 1965). Desde el punto de vista filogenético, *Scirpoides* se sitúa en el clado *Ficinia*, formado por los géneros *Ficinia*, *Isolepis*, *Hellmuthia*, *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus* y *Scirpoides* (Muasya et al., 2012; Yano et al., 2012). Las posiciones filogenéticas de los géneros *Ficinia* e *Isolepis* son consistentes y han sido largamente estudiadas (Muasya & de Lange, 2010; Muasya et al., 2001). Sin embargo, en el caso de *Hellmuthia*, *Dracoscirpoides*, *Erioscirpus* y *Scirpoides* no hay estudios que resuelvan claramente las relaciones filogenéticas. La mayor parte de los miembros del clado *Ficinia* se distribuyen en el hemisferio sur, principalmente en el sur de África y Australasia (Goetghebeur, 1998; Muasya & de Lange, 2010; Muasya et al., 2012; Simpson et al., 2007). *Scirpoides*, en cambio, está distribuido en ambos hemisferios: en

el hemisferio norte fundamentalmente en la cuenca del Mediterráneo alcanzando el centro de Europa y Asia Occidental, y en el hemisferio sur en la región florística del Cabo –Sudáfrica– donde presenta su centro de diversidad (Muasya, 2005). La presencia de *S. holoschoenus* en el hemisferio norte podría ser considerada como un caso de conservatismo de nicho filogenético, ya que esta especie ocupa áreas con hábitat similar (latitud, clima, ecología) a las especies del hemisferio Sur (Yano et al. 2012). Merece destacar que todos los miembros del clado *Ficinia* están relacionados con un clima tipo Mediterráneo (Muasya et al., 2012; Yano et al., 2012).

Soják (1972a) inicialmente reconoce cuatro especies de *Scirpoides* (*S. holoschoenus* (L.) Soják, *S. globifera* (L.f.) Soják, *S. romana* (L.) Soják y *S. thunbergii* (Schr.) Soják) que posteriormente (Soják 1972b) reduce a dos (*S. holoschoenus*, *S. nodosus* (Rottb.) Soják) e incluye dentro del complejo *S. holoschoenus* cuatro subespecies (*S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják, *S. holoschoenus* (L.) Soják subsp. *australis* (Murr.) Soják, *S. holoschoenus* subsp. *globifera* (L. f.) Soják y *S. holoschoenus* subsp. *thunbergii* (Schr.) Soják). La clasificación de Govaerts et al. (2007) reconoce cuatro especies en *Scirpoides* (*Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják, *Scirpoides burkei* (C.B. Clarke) Goetgh., Muasya & D.A. Simpson, *Scirpoides dioeca* (Kunth) Browning y *Scirpoides varia* Browning). De acuerdo con esta última clasificación, *Scirpoides holoschoenus* incluye tres subespecies: *Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus* (L.) Soják, *Scirpoides holoschoenus* subsp. *globifera* (L.f.) Soják, y *Scirpoides holoschoenus* subsp. *thunbergii* (Schr.) Soják. De todas las especies reconocidas en las diferentes clasificaciones, *Scirpoides holoschoenus* es el taxon que presenta mayor variabilidad infraespecífica. En concreto, la cuenca mediterránea, sensu lato (s.l.), alberga gran diversidad (Castroviejo et al., 2008; Guinocet & Vilmoren, 1978; Kukkonen, 1998; Levyns, 1950; Maire, 1957; Pignatti, 1982; Quezel & Santa, 1962). Desde el punto de vista ecológico, *S. holoschoenus* es un componente vegetal importante en las praderas juncuales de óptimo Mediterráneo –*Molinio-Holoschoenion*– (García-Madrid et al., 2010). Los pastos mediterráneos húmedos de hierbas altas de *Molinio-Holoschoenion* constituyen uno de los hábitats europeos con interés para su conservación (Directiva Hábitat, código 6420).

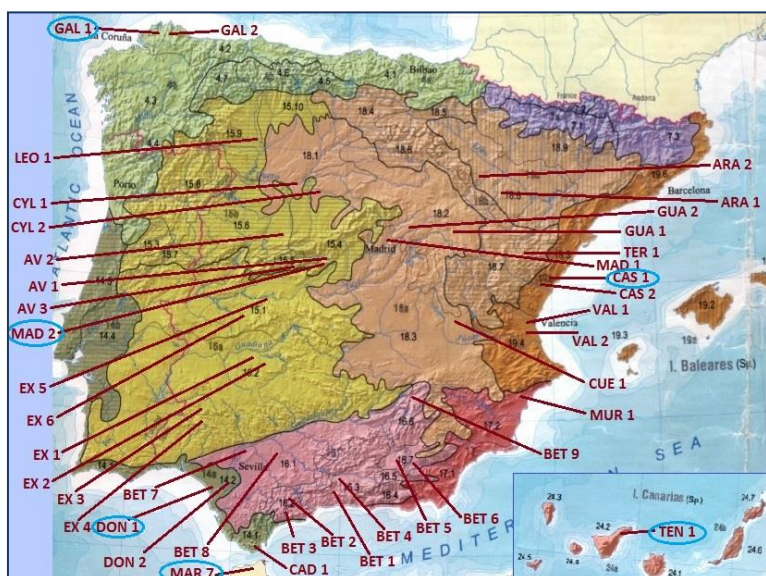
Los marcadores moleculares son segmentos de ADN que tienen una localización física identificable en un cromosoma y cuya herencia genética se puede rastrear (Avisé, 2004). Estos segmentos pueden ser tanto codificantes como no codificantes y permiten evidenciar polimorfismos en la secuencia de ADN entre individuos. El empleo de

dichas regiones polimórficas ha probado ser de gran utilidad en la reconstrucción de las relaciones filogenéticas en angiospermas (Chase et al., 1993; Roalson, 2005; Soltis et al., 1997). El estudio molecular es especialmente útil en familias como *Cyperaceae* cuya reducida y condensada morfología floral puede conducir a diferentes interpretaciones u homologías inciertas (Muasya et al., 1998). Numerosos marcadores moleculares, tanto nucleares como cloroplásticos, han mostrado ser filogenéticamente eficaces en el caso de la familia *Cyperaceae* (Muasya et al., 2009b; Roalson, 2005). Además, se han empleado marcadores cloroplásticos –rps16, trnL intrón y trnL-F intergenic spacer– a nivel de subfamilia (Simpson et al., 2003); –rbcL, rps16, trnL intrón y trnL-F intergenic spacer– a nivel de tribu (Muasya et al., 2009a) y –rbcL, trnH-psbA, trnL intrón, trnL-F intergenic spacer– a nivel de género (Muasya et al., 2000b; Muasya et al., 2001; Muasya et al., 2002; Yano et al., 2012). En los últimos años, se han comenzado a utilizar marcadores nucleares –ITS y ETS– en diferentes géneros de la familia (Roalson & Friar, 2004; Yano et al., 2012). En el caso de *Scirpoides*, no existe ningún estudio filogenético focalizado en el género hasta el momento. El objetivo principal de este estudio, por ello, es el de identificar marcadores moleculares útiles en la filogenia del género mediante el estudio de su variabilidad en el grupo *S. holoschoenus*. Con este fin se ha realizado un estudio morfológico paralelo para identificar caracteres diferenciales entre los taxones de estudio. Esto permitirá correlacionar los patrones de variabilidad morfológica con los patrones de variabilidad molecular de los marcadores moleculares, evaluando así su posible utilidad filogenética.

## Material y Métodos

### Material de estudio

Se llevó a cabo un muestreo de 25 individuos de *Scirpoides holoschoenus* s.l. por población en 41 localidades repartidas por la Península Ibérica, Islas Canarias y Norte de África. Estas localidades recogen la variabilidad climática y litológica del territorio (Fig. 1). Se recolectaron, cuando fue posible, dos poblaciones por sector biogeográfico (Rivas-Martínez et al., 2011). De las 41 poblaciones muestreadas se seleccionaron seis, distribuidas a lo largo de un gradiente geográfico. Dentro de estas últimas poblaciones se escogieron 11 individuos que constituyen una muestra representativa de la variabilidad morfológica existente y que se distribuyen de la siguiente forma: un individuo de la provincia biogeográfica Atlántica-Europea (población GAL1, Galicia), un individuo de la provincia biogeográfica Mediterránea Ibérica Central (población MAD2, Madrid), tres individuos de la provincia biogeográfica Catalana-Provenzal-Balear (población CAS1, Castellón), un individuo de la provincia biogeográfica Lusitano-Andaluza Litoral (población DON1, Huelva), dos individuos de la provincia biogeográfica Canaria (población TEN1, Tenerife) y tres individuos de la provincia biogeográfica Tingitana (población MAR7, Norte de Marruecos) –Tabla 1–. Está previsto un estudio poblacional futuro con el conjunto de las muestras recolectadas. Por otra parte, con el fin de ampliar el área de distribución muestreada, se incluyeron en el estudio cuatro individuos procedentes de material de herbario (H: Museum Botanicum Univ., Helsinki), recolectados en el este de la cuenca del Mediterráneo –Tabla 1–.



**Figura 1:** Distribución de las 41 localidades muestreadas sobre la sectorización biogeográfica de España (Rivas-Martínez, 2011). Las localidades englobadas en un círculo azul indican la procedencia de los individuos de estudio. Los colores corresponden a las siguientes provincias: verde claro: Atlántica-Europea; morado: Cevenense-Pirenaica; amarillo: Mediterránea Ibérica Occidental; marrón claro: Mediterránea Ibérica Central; marrón oscuro: Catalana-Provenzal-Balear; verde oscuro: Lusitano-Andaluza Litoral; rosa: Bética; rojo: Murciano-Almeriense; naranja: Canaria; beige: Tingitana.



**Tabla 1:** Procedencia de los individuos incluidos en el estudio. Los taxones han sido designados de acuerdo a un criterio personal previo basado en bibliografía y observaciones de material de campo y de herbario. Los asteriscos (\*) indican los códigos de herbario (MAF) que aún no están disponibles y en su lugar se muestra el código de muestreo.

Procedencia	Código Herbario	Taxon
España: Castellón, Ribesalbes.	CAS1-SCI 1 (*)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>
España: Madrid, Chapinería.	MAD2-SCI 19 (*)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>
Turquía: Izmit.	1447568 (H)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>
España: Huelva, Almonte (Doñana).	DON1-SCI 2 (*)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>
España: Galicia, Santa Marta de Ortigueira.	GAL1-SCI 23 (*)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>
Marruecos: Tangier-Tetouan, Martil.	MAR7-SCI 13 (*)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>
Irán: Kordestan, Kuh-e-Chehel Chashmeh.	1205577 (H)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>
Chipre: Limassol.	1696343 (H)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>
Turquía: Bursa, Orhangazi-Iznik.	1653563 (H)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>
España: Castellón, Ribesalbes.	CAS1-SCI 11 (*)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>romana</i>
Marruecos: Tangier-Tetouan, Martil.	MAR7-SCI 15 (*)	<i>Scirpoides globifera</i>
España: Tenerife, Igüste de San Andrés.	TEN1-SCI 8 (*)	<i>Scirpoides globifera</i>
España: Tenerife, Igüste de San Andrés.	TEN1-SCI 10 (*)	<i>Scirpoides globifera</i>
España: Castellón, Ribesalbes.	CAS1-SCI 8 (*)	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i> x <i>S. globifera</i> ?
Marruecos: Tangier-Tetouan, Martil.	MAR7-SCI 3 (*)	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i> x <i>S. globifera</i> ?

#### ▪ Estudio morfológico

Se midieron un total de 25 caracteres en los 15 individuos de *S. holoschoenus* s.l. seleccionados previamente. Estos caracteres fueron escogidos en base a estudios morfológicos previos realizados en el género (Browning & Gordon-Gray, 2011; Browning & Gordon-Gray, 1994; Pignotti, 2003).

#### ▪ Extracción de ADN

El ADN total de los 15 individuos de estudio fue extraído de 0.3-0.5 g de tejido secado en silica gel empleando el kit DNeasy Plant Mini Kit de Qiagen (Courtaboeuf, Francia), según las instrucciones del fabricante. Las concentraciones de ADN obtenidas fueron verificadas mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%.

#### ▪ Amplificación

Se seleccionaron 12 marcadores moleculares: dos marcadores nucleares –nrDNA– (ITS, ETS) y 10 marcadores cloroplásticos (5' trnK, 3' trnK, trnH-psbA, trnT-trnL,

ycf6F-psbMR, trnCF-ycf6R, rpS4R2-trnTR, trnL intrón, trnL-F intergenic spacer, psbJ-petA) en base a estudios previos y búsqueda de nuevos marcadores variables –Tabla 2–. Las amplificaciones se realizaron en termocicladores Eppendorf Mastercycler pro-S (Eppendorf AG, Alemania) empleando 1 U de DNA-Polimerasa (Biotools) en 25 µl de reacción, según las instrucciones del fabricante. Con el fin de optimizar las reacciones, se añadió BSA al 1% en todas. Los ciclos de PCR, en la mayoría de los marcadores, consistieron en una desnaturalización inicial de 1 minuto a 95°C, seguida de 35 ciclos de desnaturalización (1 min. a 94°C), hibridación (45 s. a diferentes temperaturas, Tabla 2) y extensión (45 s. a 72°C), con una extensión final de 72°C, durante 10 min. En el caso de ITS, ETS y trnL-F intergenic spacer se emplearon condiciones ligeramente diferentes (Cubas et al., 2002; Starr et al., 2003; White et al., 1990). Aquellos marcadores que no consiguieron amplificar bajo diferentes condiciones (modificando la temperatura de hibridación y adición de BSA) fueron descartados. Se comprobó la presencia de productos de PCR mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%.

**Tabla 2:** Lista de parejas de primers y temperaturas de hibridación de PCR usadas en el estudio para los 12 marcadores probados. Los loci seguidos de asterisco (\*) indican regiones no probadas anteriormente en *Cyperaceae*.

Locus	Nombre del Primer	Secuencia (5'-3')	Temperatura de hibridación	Referencia
ITS (ITS1 - 5.8S - ITS2)	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	56°C	White et al., 1990
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		
ETS 1f	ETS-1F	CTGTGGCGTCGCATGAGTTG	55°C	Starr et al., 2003
	18S-R	AGACAAGCATATGACTACTGGCAGG		
5' trnK	39-F	TGCGGCTAGGATCTTTACACA	52°C	Pelser et al., 2002
	546-R	TTTTTCAACCCAATCGCTCTTT		
3' trnK*	1023-F	GATTTGGGCCGATTCTC	52°C	Pelser et al., 2002
	1559-R	GCACACGGCTTTCCTCTG		
trnH-psbA	trnH	CGCGCATGGTGGATTCAATCC	52°C	Shaw et al., 2005
	psbA	GTTATGCATGAACGTAATGCTC		
trnT-trnL*	A	CATTACAAATGCGATGCTCT	52°C	Taberlet et al., 1991
	B	TCTACCGATTTCGCCATATC		
ycf6F-psbMR*	ycf6F	ATGGATATAGTAAGTCTYGCTTGGGC	55°C	Shaw et al., 2005
	psbMR	ATGGAAGTAAATATTCTYGCATTATTGCT		
trnCF-ycf6R*	trnCF	CCAGTTCRAATCYGGGTG	55°C	Shaw et al., 2005
	ycf6R	GCCCAAGCRAGACTTACTATATCCAT		
rpS4R2-trnTR*	rpS4R2	CTGTNAGWCCRTAATGAAAACG	52°C	Shaw et al., 2005
	trnTR	AGGTAGAGCATCGATTG		
trnL intron	C	CGAAATCGGTAGACGCTACG	55°C	Taberlet et al., 1991
	D	GGGGATAGAGGGACTTGAAC		
trnL-F intergenic spacer	E	GGTTCAAGTCCCTCTATCCC	48°C	Taberlet et al., 1991
	F	ATTTGAAGTGGTGACACGAG		
psbJ-petA*	psbJ	ATAGGTACTGTARCYGGTATT	50°C	Shaw et al., 2007
	petA	ACCARTTYGARAAGGTCAATT		

### ▪ Secuenciación

Los productos seleccionados fueron secuenciados usando ABI PRISM Dye terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PE Biosystems), con el primer de amplificación. Las reacciones de secuenciación se realizaron, por electroforesis, en un equipo ABI PRISM 3730 DNA Analyser (Applied Biosystems, CA) en el Centro de Genómica y Proteómica de la Universidad Complutense de Madrid.

### ▪ Análisis de las secuencias

Las secuencias fueron editadas y alineadas empleando el programa BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>). Para evaluar la utilidad filogenética de cada marcador se estimaron las divergencias evolutivas entre las secuencias de los diferentes individuos, por parejas y como conjunto, empleando el método de Máxima Similitud Compuesta (Tamura et al., 2004) en el programa MEGA v. 5.2.2 (Tamura et al., 2011; <http://www.megasoftware.net/index.php>). Para aquellos marcadores que mostraron mayor distancia entre las secuencias, se recurrió a GenBank con el fin de añadir información procedente de las especies sudafricanas (Tabla 3). Se construyó, para cada marcador polimórfico, un árbol filogenético preliminar empleando el algoritmo Neighbor-joining, en el programa MEGA, y se relacionaron dichos árboles con la variabilidad encontrada en el estudio morfológico. El soporte interno de los clados fue estimado usando 2000 réplicas de bootstrap (Felsenstein, 1985).

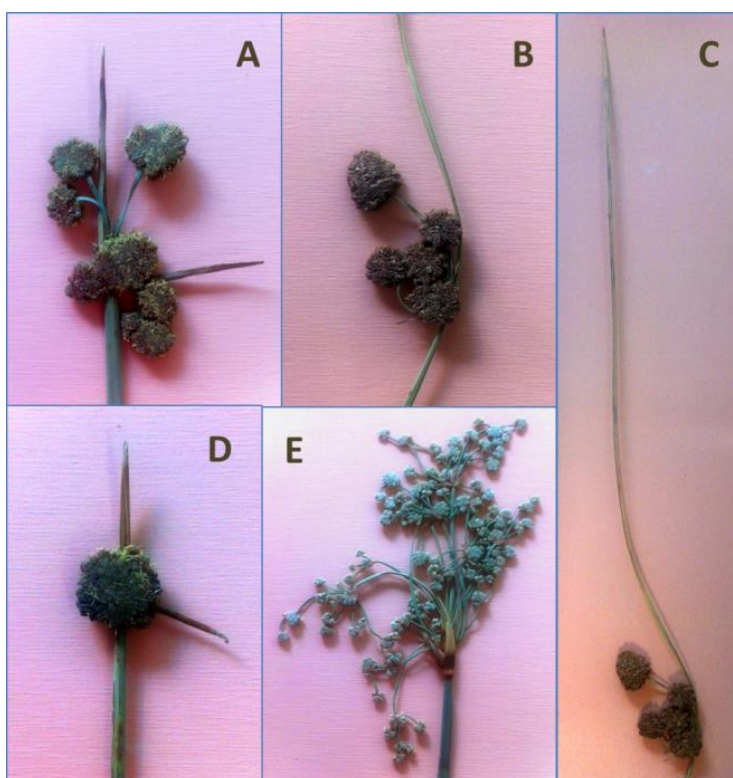
**Tabla 3:** Números de acceso de Genbank de los individuos sudafricanos añadidos en el análisis de variabilidad de marcadores. Los taxones han sido designados de acuerdo a un criterio personal previo basado en bibliografía y observaciones de material de campo y de herbario. El asterisco (\*) indica material de herbario de procedencia desconocida.

Especie	ITS	trnL	Referencia	Procedencia
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>	-	AY344176	Simpson et al., 2003	TCD (*)
<i>Scirpoides thunbergii</i> sub <i>S. holoschoenus</i>	AB685867	-	Yano et al., 2012	GENT (*)
<i>Scirpoides thunbergii</i> sub <i>S. holoschoenus</i>	-	AJ295811	Muasya et al., 2001	Sudáfrica
<i>Scirpoides thunbergii</i>	AB685868	-	Yano et al., 2012	Sudáfrica
<i>Scirpoides thunbergii</i>	-	AJ295812	Muasya et al., 2001	Sudáfrica
<i>Scirpoides burkei</i>	-	AJ295810	Muasya et al., 2001	Sudáfrica
<i>Scirpoides dioeca</i>	GU012394	-	Muasya & De Lange, 2010	Sudáfrica

## Resultados

- *Caracteres morfológicos*

La Figura 2 muestra las diferentes inflorescencias encontradas en los taxones reconocidos. Las características morfológicas más relevantes de los individuos de estudio se resumen en la Tabla 4. Los caracteres diagnósticos encontrados más importantes son: número y diámetro de los glomérulos, presencia de glomérulos secundarios y longitud de las brácteas inferior y superior. Los resultados muestran que la existencia de glomérulos secundarios y bractéolas separan *S. globifera* de *Scirpoides holoschoenus* s.l.. Por otra parte, la distinción entre *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*, *S. holoschoenus* subsp. *australis* y *S. holoschoenus* subsp. *romana* se fundamenta en el número de glomérulos y longitud de las brácteas inferior y superior.



**Figura 2:** Inflorescencia de los taxones reconocidos en el género *Scirpoides* en la cuenca del Mediterráneo s.l.. **A:** *S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus*; **B:** *S. holoschoenus* subsp. *australis*; **C:** Detalle de bráctea inferior de *S. holoschoenus* subsp. *australis*; **D:** *S. holoschoenus* subsp. *romana*; **E:** *S. globifera*.

**Tabla 4:** Caracteres morfológicos de los taxones estudiados.

	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>romana</i>	<i>Scirpoides globifera</i>	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i> x <i>S.</i> <i>globifera</i> ?	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i> x <i>S.</i> <i>globifera</i> ?
<b>Diámetro del tallo</b> (mm)	4,0-4,5	1,8-3,0	5	4,0-5,0	3,5	3
Forma del tallo	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico
<b>Hojas:</b> Vainas (cm)	(0) 3-8,5	(0) 2-12	-	2,5-5,5	-	-
Lámina	(0) 6,5-8	(0) 4-40	-	5,5-10	6	-
<b>Inflorescencia:</b> Tamaño (cm)	2,5-3,5 x 3,7-7,2	0,9-2,5 x 2,1-3,7	1,1	3,8-9,5 x 7,6-13	5 x 9	6 x 2,3
Bráctea inferior (cm)	2-7,5	13,5-24,5	2,3	2-5,2	3	24
Bráctea superior (cm)	(0) 1,5-2,5	(0) 3-5,5	1,5	1,3-3	1,5	5,5
Bractéolas	2-3	No	No	4-5 por individuo	4-5 por individuo	4-5 por individuo
Nº. de glomérulos	7-8	2-6	1	20-100	14	14
Glomérulos secundarios	No	No	No	Si	Si	Si
Long. de los pedúnculos (cm)	0-3,7	0-2,5	0	0,2-7,5	0,5 - 5	0,1 - 4
Diámetro de glomérulos (cm)	0,4-1	0,2-0,9	1,1	0,1-0,7	0,3 - 0,9	0,1 - 0,4
Disposición de las espiguillas	Pseudolateral	Pseudolateral	Central	Pseudolateral	Pseudolateral	Pseudolateral
<b>Espiguillas:</b> Longitud (mm)	1,3-2,2	1,3-2	2,1	1,2-2	2	2
Contorno forma del ápice	Agudo, alargado	Obtuso	Agudo	Agudo	Agudo	Agudo
<b>Glumas:</b> Tamaño (mm)	0,9-1,1 x 1,2-2,2	0,6-1,6 x 1,0-1,8	2,1 x 1	1-1,4 x 1,1-2	1,2 x 2	1,8 x 1,2
Forma	Obovado-Alargado	Obovado, fuertemente cóncavas	Obovado, fuertemente cóncavas	Obovado, fuertemente cóncavas	Obovado, fuertemente cóncavas	Obovado, fuertemente cóncavas
Margen	Dentado, serrado, hialino	Dentado, ondulado, hialino	Dentado, hialino	Dentado, hialino	Dentado, serrado, hialino	Dentado
Ápice (mm)	Mucronado, 0,1-0,2	Mucronado, 0,1-0,7	Mucronado 0,1	Mucronado, 0,1-0,6	Mucronado, 0,2	Mucronado, 0,4
Color	Pardo-rojizo	Pardo-rojizo	Pardo-rojizo	Pardo-rojizo, verde	Pardo-rojizo	Pardo-rojizo
<b>Estambres / Estigmas</b>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
<b>Aquenios:</b> Tamaño (mm)	1,2 x 0,8	1,1 x 0,6	1,2 x 0,8	-	0,8 x 1	-
Forma	Obovado-elíptico, ligeramente trígono	Obovado-elíptico, ligeramente trígono	Obovado-elíptico, ligeramente trígono	-	Obovado-elíptico, ligeramente trígono	-
Superficie	Papiloso	Papiloso	Papiloso	-	Papiloso	-

*S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* presenta tallos de 4-4.5 mm de diámetro. El tamaño de la inflorescencia es superior al resto de subespecies de *S. holoschoenus* y porta unos 7-8 glomérulos de 0,4-1 cm de diámetro. No posee glomérulos secundarios. Las brácteas son de 2-7,5 cm la inferior y 1,5-2,5 cm la superior. *S. holoschoenus* subsp. *australis*, se caracteriza por presentar tallos de 1,8-3 mm de diámetro que se prolongan en una bráctea de hasta 25 cm longitud. Suele portar entre 2 y 6 glomérulos de tamaño medio (0,2-0,9 cm) y disposición pseudolateral. No posee glomérulos secundarios y el tamaño de los pedúnculos es de hasta 2,5 cm. *S. holoschoenus* subsp. *romana* posee un único glomérulo de gran tamaño (1,1 cm de diámetro), sentado y con disposición central. Las brácteas son cortas, con 2,3 cm la inferior y 1,5 cm la superior. El diámetro del tallo es de 5 mm. *S. globifera* presenta tallos de 4,5-5 mm de diámetro. Las inflorescencias incluyen hasta 100 glomérulos de 0,1-0,7 cm, en muchos casos secundarios y hasta terciarios. Las brácteas inferior y superior son cortas, de hasta 5,2 cm la inferior y 3 cm la superior, pudiendo presentar entre 4-5 bractéolas, por individuo, muy desarrolladas. Los dos individuos que presentan características intermedias –*S. holoschoenus* subsp. *holoschoenus* y *S. globifera* el primero y *S. holoschoenus* subsp. *australis* y *S. globifera* el segundo– podrían apuntar preliminarmente a la existencia de híbridos.

- *Variabilidad de los marcadores moleculares*

De los 12 marcadores estudiados, cuatro de ellos –trnT-trnL, rpS4R2-trnTR, psbJ-petA y ETS– no amplificaron en ninguna de las condiciones probadas, por lo que se descartaron. La Tabla 5 recoge las estimaciones de divergencia evolutiva entre secuencias de seis de los marcadores cloroplásticos –5' trnK, 3' trnK, trnH-psbA, ycf6F-psbMR, trnCF-ycf6R y trnL-F–, que amplificaron en parte de las muestras pero no mostraron variabilidad entre los individuos de estudio. En estos marcadores la distancia global entre secuencias varió entre 0.002 y 0.004 sustituciones.

Las regiones trnL intrón (cpDNA) e ITS (nrDNA) fueron las únicas que presentaron variabilidad, con valores de distancia global entre secuencias de 0.023 sustituciones para trnL intrón y 0.087 para ITS. En ambos marcadores se añadieron secuencias disponibles en Genbank y se analizaron con mayor profundidad.



**Tabla 5:** Estimaciones de divergencia evolutiva entre secuencias expresadas como distancia entre parejas de secuencias y distancia en conjunto para cada marcador. Los datos indican el número de sustituciones de bases por sitio entre las secuencias.

Marcador / Taxon	Código de Muestreo	Distancias por parejas				Distancias en conjunto
<b>5' trnK</b>						0.002
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>	MAD2-SCI 19					
<i>Scirpoides globifera</i>	TEN1-SCI 8	0.002				
<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i> x <i>S. globifera</i> ?	MAR7-SCI 3	0.000	0.002			
<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i> x <i>S. globifera</i> ?	CAS1-SCI 8	0.004	0.002	0.004		
<b>3'trnK</b>						0.002
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	MAR7-SCI 13					
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	1696343 (H)	0.002				
<i>Scirpoides globifera</i>	TEN1-SCI 8	0.000	0.002			
<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i> x <i>S. globifera</i> ?	MAR7-SCI 3	0.004	0.002	0.004		
<b>trnH-psbA</b>						0.003
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	DON1-SCI 2					
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	MAR7-SCI 13	0.000				
<i>Scirpoides globifera</i>	MAR7-SCI 15	0.000	0.000			
<i>Scirpoides globifera</i>	TEN1-SCI 8	0.005	0.005	0.005		
<b>ycf6-psbMR</b>						0.004
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>	MAD2-SCI 19					
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	DON1-SCI 2	0.000				
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	GAL1-SCI 23	0.000	0.000			
<i>Scirpoides globifera</i>	MAR7-SCI 15	0.005	0.005	0.005		
<i>Scirpoides globifera</i>	TEN1-SCI 8	0.007	0.007	0.007	0.009	
<b>trnCF-ycf6R</b>						0.004
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>	MAD2-SCI 19					
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	GAL1-SCI 23	0.000				
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>romana</i>	CAS1-SCI 11	0.000	0.000			
<i>Scirpoides globifera</i>	TEN1-SCI 8	0.005	0.005	0.005		
<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i> x <i>S. globifera</i> ?	MAR7-SCI 3	0.007	0.007	0.007	0.009	
<b>trnL-F</b>						0.003
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>	MAD2-SCI 19					
<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	DON1-SCI 2	0.000				
<i>Scirpoides globifera</i>	MAR7-SCI 15	0.002	0.002			
<i>Scirpoides globifera</i>	TEN1-SCI 10	0.000	0.002	0.003		
<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i> x <i>S. globifera</i> ?	CAS1-SCI 8	0.004	0.002	0.004	0.004	

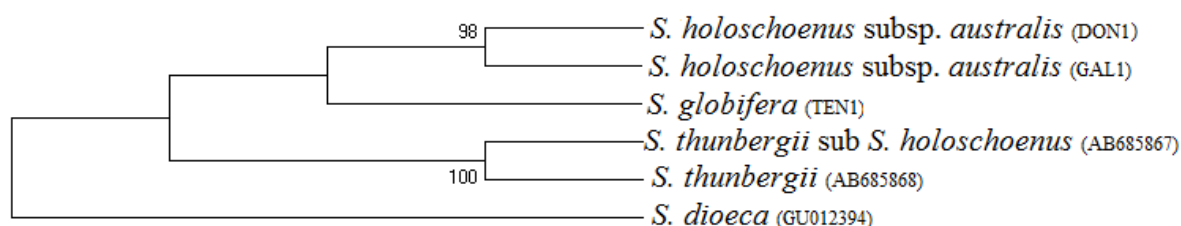
La longitud de la región ITS varió entre 505 y 571 pb. La matriz de datos alineada requirió la inclusión de posiciones con huecos, e incluyó un total de 584 caracteres, correspondientes a ITS1, 5.8S e ITS 2. La frecuencia de bases para la región ITS completa fue: A= 20.42%; C= 32.22%; G= 31.87% y T= 15.49%. El alineamiento de las secuencias de ITS disponibles mostró 99 posiciones variables y 10 inserciones – Tabla 6–.

La longitud del intrón trnL varió entre 593 y 612 pb. La frecuencia de bases fue: A= 41.94%; C= 11.18%; G= 13.65% y T= 33.22%. La matriz de datos alineada incluyó un total de 615 caracteres y requirió la inclusión de posiciones con huecos. El alineamiento

de las secuencias de trnL intrón disponibles mostró 23 posiciones variables y 3 inserciones –Tabla 7–.

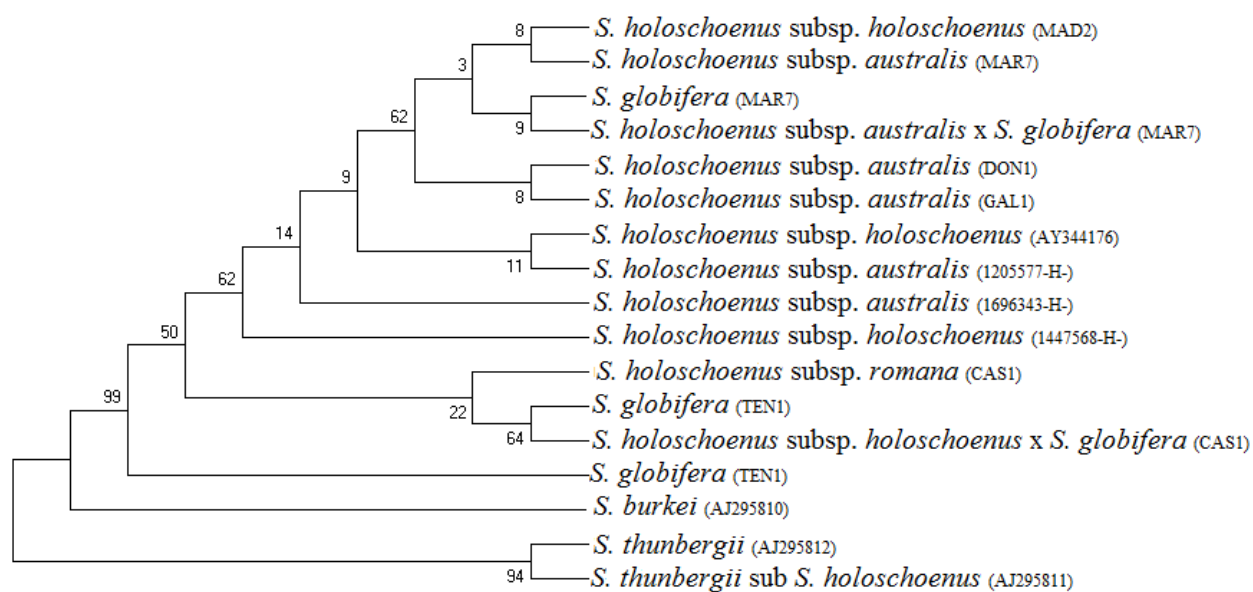
- *Reconstrucción filogenética preliminar*

El árbol filogenético preliminar para el marcador nuclear ITS se muestra en la Figura 3. Este árbol muestra un clado formado por las especies circummediterráneas de *Scirpoides* (*S. holoschoenus* subsp. *australis* y *S. globifera*), que parece ser próximo a los individuos sudafricanos de *S. thunbergii* incluidos en el estudio, y forma con ellos, a su vez, otro clado más alejado del individuo de sudafricano de *S. dioeca*. Por otro lado, los valores de bootstrap parecen apoyar estas relaciones.



**Figura 3:** Árbol filogenético preliminar obtenido a partir de las secuencias de ITS. Los caracteres entre paréntesis indican la población de procedencia de las muestras y, en su caso, el número de acceso de Genbank.

En el caso de trnL el árbol filogenético generado no parece seguir un patrón claro de diferenciación entre especies (Fig. 4). Los datos muestran que los individuos sudafricanos (*S. thunbergii* y *S. burkei*) forman un clado alejado de los individuos circummediterráneos, con un valor de bootstrap elevado. Dentro de los individuos circummediterráneos este marcador no diferencia los taxones incluidos en el análisis.



**Figura 4:** Árbol filogenético preliminar obtenido a partir de las secuencias de trnL intrón. Los caracteres entre paréntesis indican la población de procedencia de las muestras, número de Herbario (H) y, en su caso, el número de acceso de Genbank.

**Tabla 6:** Sitios nucleotídicos variables en el marcador ITS (nrDNA). Las posiciones nucleotídicas se refieren a la localización de cada sitio variable en la secuencia. (.) Indica similitud con la primera secuencia; (/) indica deleciones; (?) significa falta de datos; (1-10) significa inserción; (0) indica ausencia de inserción; <sup>(1)</sup> indica las muestras procedentes de Genbank.

Muestra	Especie	Posición de los sitios polimórficos (ITS) (1)																																				
		2	3	4	7	8	9	10	11	12	17	23	26	29	49	54	57	63	66	68	69	70	72	75	76	77	78	79	80	84	87	88	96	98	102	103	106	282
DON1-SCI2	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	/	C	C	A	C	C	C	T	G	T	T	T	A	T	C	G	C	G	T	C	/	C	G	C	G	C	G	C	0	C	C	C	/	/	/	T	C
GAL1-SCI23	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	/	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	/	.	.	.	.	.	.	.	0	.	.	.	/	/	/	.	.
TEN1-SCI8	<i>S. globifera</i>	/	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	/	C	.	.	.	.	.	.	/	.	.	.	.	.	.	.	0	.	.	.	/	/	/	.	.
AB685867	<i>S. thunbergii</i> sub <i>S. holoschoenus</i> <sup>(1)</sup>	G	.	.	G	.	G	/	C	C	.	G	G	/	.	.	T	T	/	G	T	T	.	.	.	T	T	/	/	1	T	T	T	G	/	/	.	T
AB685868	<i>S. thunbergii</i> <sup>(1)</sup>	G	.	.	G	.	G	/	C	C	.	G	G	/	.	.	T	T	/	G	T	T	.	.	.	T	T	/	/	1	T	T	T	G	/	/	.	T
GU012394	<i>S. dioeca</i> <sup>(1)</sup>	G	T	T	G	T	G	/	.	C	A	G	G	/	.	T	.	.	/	A	A	T	T	/	/	T	T	.	/	1	T	G	T	/	A	A	C	.

Muestra	Especie	Posición de los sitios polimórficos (ITS) (2)																																			
		286	287	291	300	303	309	310	316	328	333	334	335	336	337	338	339	346	349	361	363	366	368	370	371	380	389	393	397	400	405	407	415	418	438	442	443
DON1-SCI2	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	G	C	C	/	T	C	/	0	3	/	/	A	G	A	C	4	C	A	G	/	G	G	/	C	C	A	C	C	A	G	5	C	C	G	C	G
GAL1-SCI23	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	.	.	.	/	.	.	/	0	3	/	/	.	.	.	.	4	.	.	.	/	.	.	/	.	.	.	.	.	.	5	.	.	.	.	.	
TEN1-SCI8	<i>S. globifera</i>	.	.	.	/	.	.	/	0	3	G	G	.	/	/	T	4	.	.	.	/	.	.	/	.	.	.	.	.	.	0	.	.	.	.	.	
AB685867	<i>S. thunbergii</i> sub <i>S. holoschoenus</i> <sup>(1)</sup>	.	T	/	/	.	.	/	0	3	/	/	.	.	.	T	4	.	.	A	/	T	.	/	T	T	G	T	.	.	.	0	T	T	A	.	.
AB685868	<i>S. thunbergii</i> <sup>(1)</sup>	/	T	/	/	.	.	/	0	3	/	/	.	.	.	T	4	.	.	A	/	T	.	/	T	T	G	T	.	.	.	0	T	T	A	.	.
GU012394	<i>S. dioeca</i> <sup>(1)</sup>	A	.	/	A	/	T	T	2	0	/	/	/	/	/	/	0	T	G	.	T	/	C	A	.	.	.	T	T	T	A	0	.	.	A	T	A

Muestra	Especie	Posición de los sitios polimórficos (ITS) (3)																																			
		451	452	453	455	458	461	462	463	467	474	475	478	479	480	482	484	489	491	501	502	503	505	507	510	516	519	522	523	525	528	529	530	534	545	548	573
DON1-SCI2	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	A	T	C	C	/	/	G	/	G	C	C	/	/	C	G	/	/	C	A	C	T	/	C	C	A	0	/	/	0	C	G	8	9	G	/	C
GAL1-SCI23	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	.	.	.	.	/	/	.	/	.	.	.	/	/	.	.	/	/	.	.	.	.	/	.	.	.	0	/	/	0	.	.	8	9	.	/	.
TEN1-SCI8	<i>S. globifera</i>	.	.	.	.	/	/	.	/	.	.	.	T	/	/	.	/	/	.	.	.	C	/	.	.	.	0	G	/	0	/	.	8	9	.	/	.
AB685867	<i>S. thunbergii</i> sub <i>S. holoschoenus</i> <sup>(1)</sup>	C	.	.	/	T	C	.	G	.	.	/	T	T	.	/	/	C	/	.	T	.	/	G	.	G	0	G	/	7	/	.	8	0	/	A	?
AB685868	<i>S. thunbergii</i> <sup>(1)</sup>	C	.	.	/	T	C	.	G	.	.	/	T	T	.	/	A	/	/	.	T	.	/	G	.	G	0	G	/	7	/	.	8	0	/	A	?
GU012394	<i>S. dioeca</i> <sup>(1)</sup>	C	C	G	.	/	/	T	/	C	T	G	T	T	/	/	/	/	/	G	T	C	T	/	T	.	6	G	T	0	/	/	0	10	T	/	T

1= TGC; 2= TTGGGAGGAT; 3= CGGCC; 4= GC; 5= GC; 6= TTT; 7= TGT; 8= CC; 9= GCCGC; 10= GCGGC.

**Tabla 7:** Sitios nucleotídicos variables en el marcador trnL intrón (cpDNA). Las posiciones nucleotídicas se refieren a la localización de cada sitio variable en la secuencia. (.) Indica similitud con la primera secuencia; (/) indica deleciones; (1-3) significa inserción; (0) indica ausencia de inserción; <sup>(1)</sup> indica las muestras procedentes de Genbank.

Muestra	Especie	Posición de los sitios polimórficos (trnL intrón)																									
		89	91	106	114	123	138	147	157	158	163	198	213	286	287	308	318	417	441	481	485	486	575	582	589	593	597
MAD2-SCI19	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>	C	1	G	T	C	G	/	/	0	/	0	T	T	T	A	T	A	C	C	T	G	A	A	A	A	G
1447568 (H)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i>	.	1	.	.	.	.	/	/	0	/	3	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.
AY344176	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i> <sup>(1)</sup>	.	1	.	.	.	.	/	/	0	/	3	A	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	/	.
DON1-SCI2	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	.	1	.	.	.	.	/	/	0	/	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
GAL1-SCI23	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	.	1	.	.	.	.	/	/	0	/	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MAR7-SCI13	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	.	1	.	.	.	.	/	/	0	/	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1205577 (H)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	.	1	.	.	.	.	/	/	0	/	3	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
1696343 (H)	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i>	.	1	.	.	.	.	/	A	0	/	3	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
CAS1-SCI11	<i>Scirpoides holoschoenus</i> subsp. <i>romana</i>	.	0	.	G	.	.	T	A	2	/	3	.	C	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
MAR7-SCI15	<i>Scirpoides globifera</i>	.	1	.	.	.	.	/	/	0	/	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TEN1-SCI8	<i>Scirpoides globifera</i>	A	1	.	.	.	.	/	A	2	/	3	.	C	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
TEN1-SCI10	<i>Scirpoides globifera</i>	A	1	.	.	.	.	/	A	2	/	3	.	C	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
CAS1-SCI8	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>holoschoenus</i> x <i>S. globifera</i> ?	.	0	.	.	.	.	/	A	2	/	3	.	C	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	.	.
MAR7-SCI3	<i>S. holoschoenus</i> subsp. <i>australis</i> x <i>S. globifera</i> ?	.	1	.	.	.	.	/	/	0	/	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
AJ295812	<i>Scirpoides thunbergii</i> <sup>(1)</sup>	.	0	T	.	A	T	/	/	0	/	3	.	C	.	.	.	G	T	T	A	T	.	T	.	.	A
AJ295811	<i>Scirpoides thunbergii</i> sub <i>S. holoschoenus</i> <sup>(1)</sup>	.	0	T	.	A	T	/	/	0	/	3	.	C	.	.	.	G	T	T	A	T	.	.	.	.	.
AJ295810	<i>Scirpoides burkei</i> <sup>(1)</sup>	.	1	T	.	A	.	/	/	0	G	3	.	C	.	.	/	G	T	T	A	.	/	.	.	.	.

1= AAAAATCTATATCT; 2= AAA; 3= GAAT.

## Discusión y Conclusiones

La mayoría de las clasificaciones basadas en caracteres morfológicos dan mucho peso al número de glomérulos para la distinción de las subespecies de *S. holoschoenus*, pero también se han considerado otros aspectos como el tamaño y robustez de la planta y la longitud y rigidez de la bráctea inferior (Desfayes, 2004). La presencia de gran número de individuos intermedios en las mismas poblaciones también dificulta la asignación de las subespecies (Pignotti, 2003). Nuestros resultados muestran una gran variabilidad morfológica en los individuos íbero-norfricanos estudiados, que justifica el reconocimiento de 2 especies (*Scirpoides holoschoenus* y *S. globifera*) y 3 subespecies (*Scirpoides holoschoenus* subsp. *holoschoenus*, *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis* y *Scirpoides holoschoenus* subsp. *romana*) en los extremos de variabilidad. Estas subespecies podrían tener, además, diferentes requerimientos ecológicos como ocurre, por ejemplo, en *Scirpoides holoschoenus* subsp. *australis*, que parece estar asociado a la presencia de sustratos arenosos (Pignotti, 2003; pers. ob.).

En angiospermas, la secuenciación directa de regiones cloroplásticas codificantes como, por ejemplo, el gen *rbcL* resulta muy útil a niveles taxonómicos elevados (Gielly & Taberlet, 1994; Muasya et al., 1998). Sin embargo, la mayoría de estos genes no contienen información suficiente para resolver las relaciones entre géneros muy próximos o a niveles infragenéricos. En *Cyperaceae*, aunque estos genes han sido resolutivos en algunos géneros como *Isolepis* –Muasya et al., 2001–, en el caso de *Scirpoides* no lo han sido, por lo que se requiere el uso de secuencias no codificantes, de evolución más rápida y más resolutivas.

La región ITS es una secuencia nuclear bien caracterizada que muestra variabilidad en un amplio rango de taxones (Álvarez & Wendel, 2003; Blattner, 1999; Starr et al., 2003). ITS ha mostrado ser un marcador muy útil en diferentes grupos de *Cyperaceae*, especialmente en *Carex* (Roalson & Friar, 2004; Starr et al., 2007). En nuestro estudio, ITS resultó ser el marcador más variable, separando claramente el componente circumediterráneo del sudafricano y, además, todos los taxones entre sí. No obstante, habría que evaluar si el análisis de un número considerable de individuos puede proveer una representación de las relaciones filogenéticas precisa, suficientemente robusta y útil para estudiar la evolución del género (Álvarez & Wendel, 2003; Baldwin et al., 1995; Starr et al., 2003). ETS, el segundo de los marcadores



nucleares estudiados, se ha empleado con éxito en *Cyperaceae* (Martín-Bravo et al., 2013; Starr et al., 2003). Sin embargo, en contraposición a estudios realizados en otros géneros de la familia –en los que se destaca que es fácilmente amplificable– (Larridon et al., 2011; Starr et al., 2003) es uno de los cuatro marcadores que no amplificaron en nuestro trabajo. Sería necesaria mayor investigación para optimizar las condiciones de amplificación.

Trn-L intrón resultó ser el segundo marcador más variable después de ITS, lo que concuerda con estudios previos que remarcan que es el marcador cloroplástico – junto con el segmento trnL-F intergenic spacer– que evoluciona más rápidamente y, por tanto, resulta muy útil en estudios filogenéticos a nivel de género (Gielly & Taberlet, 1994). Nuestros resultados muestran que este marcador presenta una variabilidad moderada que permite diferenciar entre individuos circumediterráneos y sudafricanos. Sin embargo, nuestros datos sugieren que no es suficientemente informativo dentro del componente circumediterráneo.

En nuestro estudio, tres de los marcadores cloroplásticos utilizados anteriormente en *Cyperaceae* –5' trnK, trnH-psbA y trnL-F intergenic spacer– (Escudero & Luceño, 2009; Larridon et al., 2011; Muasya et al., 2009b) no mostraron variabilidad, lo cual puede ser debido a la elevada proximidad entre los individuos analizados. El análisis de secuencias de las especies sudafricanas del género *Scirpoides* (GenBank) muestra que otras regiones, como rps16, también podrían ser variables en el género, por lo que sería necesario investigar estos marcadores.

Los tres marcadores cloroplásticos restantes que no mostraron variabilidad –3' trnK, ycf6F-psbMR y trnCF-ycf6R– no habían sido probados previamente en *Cyperaceae*. Para los tres marcadores cloroplásticos que no amplificaron –trnT-trnL, rpS4R2-trnTR y psbJ-petA– sería necesaria mayor investigación para optimizar las condiciones de amplificación y, en su caso, el diseño de primers específicos para el género *Scirpoides*.

Los estudios de las últimas décadas han resaltado que en la familia *Cyperaceae* no es posible generar una clasificación natural basada únicamente en caracteres morfológicos (Bruhl, 1995; Goetghebeur, 1986; Starr et al., 2007). Sin embargo, el análisis complementario de datos morfológicos sí ha sido de utilidad para desarrollar una filogenia exhaustiva de la familia (Muasya et al., 2000a). En *Scirpoides*, La región nuclear ITS presenta variabilidad relacionada con los taxones reconocidos morfológicamente. Los datos preliminares orientan a que este marcador –ITS– es capaz

de resolver las relaciones filogenéticas de *Scirpoides* de forma lógica. En la región cloroplástica trnL, aunque en principio se encuentra cierta variabilidad, ésta no se relaciona de forma clara con los taxones definidos morfológicamente. En este caso, el árbol filogenético generado orienta a que este marcador no tiene resolución suficiente para agrupar las especies circumediterráneas correctamente.

Por todo lo anteriormente expuesto cabe concluir que: (1) La región ITS (nrDNA) puede ser utilizada como marcador molecular filogenéticamente útil en el género *Scirpoides* Ség.; (2) La región trnL (cpDNA) muestra cierta variabilidad pero no posee suficiente resolución para diferenciar los taxones circumediterráneos de *Scirpoides*; (3) Los marcadores 5' trnK, trnH-psbA y trnL-F intergenic spacer – utilizados previamente en *Cyperaceae*– y 3' trnK, ycf6F-psbMR y trnCF-ycf6R –no utilizados previamente en *Cyperaceae*– no mostraron variabilidad, por lo que no son útiles en el establecimiento de las relaciones filogenéticas en el género *Scirpoides*; (4) Los marcadores cloroplásticos trnT-trnL, rpS4R2-trnTR y psbJ-petA, que no han sido previamente utilizados en *Cyperaceae*, no amplificaron con las condiciones probadas por lo que pueden requerir el diseño de primers específicos para su amplificación; (5) La región nuclear ETS no amplificó en este trabajo pero requiere un estudio más exhaustivo debido a que los datos disponibles –Genbank– evidencian su utilidad filogenética en *Scirpoides*.

## Referencias

- Álvarez, I., & Wendel, J. F. (2003). Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29, 417-434.
- Avise, J. C. (2004). *Molecular Markers, natural history and evolution*. 2<sup>nd</sup> edition. 684 pp. Sinauer, Sunderland, MA.
- Baldwin, B. G., Sanderson, M. J., Porter, J. M., Wojciechowski, M. F., Campbell, C. S., & Donoghue, M. J. (1995). The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Annals of Montreal Botanical Garden*, 82, 247-277.
- Blattner, F. R. (1999). Direct amplification of the entire ITS region from poorly preserved plant material using recombinant PCR. *BioTechniques*, 27, 1180-1186.
- Browning, J., & Gordon-Gray, K. D. (1994). Studies in *Cyperaceae* in Southern Africa 24. Three species of *Scirpoides*. *South African Journal of Botany*, 60 (6), 315-320.
- Browning, J., & Gordon-Gray, K. D. (2011). Studies in *Cyperaceae* in southern Africa 43: *Scirpoides varius* Browning — a new name for *Scirpus varius* Boeck. Ex. C. B. Clarke. *South African Journal of Botany*, 77, 506-508.
- Bruhl, J. J. (1995). Sedge genera of the world: Relationships and a new classification of the *Cyperaceae*. *Australian Systematic Botany*, 8, 125-305.
- Castroviejo, S. & al. (ed.) (2008): *Flora Ibérica*. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Vol. XVIII *Cyperaceae-Pontederiaceae*. Real Jardín Botánico, C.S.I.C. Madrid.
- Chase, M. W., Soltis, D. E., Olmstead, R. G., Morgan, D., Les, D. H., Mishler, B. D., Duvall, M. R., Price, R. A., Hills, H. G., Qiu, Y. -L., Kron, K. A., Rettig, J. H., Conti, E., Palmer, J. D., Manhart, J. R., Sytsma, K. J., Michaels, H. J., Kress, W. J., Karol, K. G., Clark, W. D., Hedrén, M., Gaut, B. S., Jansen, R. K., Kim, K. -J., Wimpee, C. F., Smith, J. F., Furnier, G. R., Strauss, S. H., Xiang, Q. -Y., Plunkett, G. M., Soltis, P. S., Swenson, S. M., Williams, S. E., Gadek, P. A., Quinn, C. J., Eguiarte, L. E., Golenberg, E., Learn Jr., G. H., Graham, S. W., Barrett, S. C. H., Dayanandan, S., & Albert, V. A. (1993). Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. *Annals of Missouri Botanic Garden*, 80, 528-586.
- Cubas, P., Pardo, C., & Tahiri, H. (2002). Molecular approach to the phylogeny and systematics of *Cytisus* (*Leguminosae*) and related genera based on nucleotide sequences of nrDNA (ITS region) and cpDNA (*trnL-trnF* intergenic spacer). *Plant Systematics and Evolution*, 233, 223-242.
- Desfayes, M. (2004). The specific status of *Cyperus badius* and the subspecies of *Scirpoides holoschoenus* (*Cyperaceae*), with special reference to Sardinia. *Flora Mediterranea*, 14, 173-188.
- Escudero, M., & Luceño, M. (2009). Systematics and evolution of *Carex* sects. *Spirostachyae* and *Elatae* (*Cyperaceae*). *Plant Systematics and Evolution*, 279, 163-189.
- EU Habitats Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora (OJ L 206, 22.7.1992, p. 7).
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783-791.
- García-Madrid, A. S., Molina, J. A., Casermeiro, M. A., Cruz, M. T. de la, & Cantó, P. (2010). Relaciones entre los parámetros físico-químicos del suelo y la vegetación en juncuales de *Scirpoides holoschoenus*. *Lazaroa*, 31, 99-107.
- Gielly, L., & Taberlet, P. (1994). The Use of Chloroplast DNA to Resolve Plant Phylogenies: Noncoding versus *rbcL* Sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 11(5), 769-777.
- Goetghebeur, P. (1986). *Genera Cyperacearum*. Een bijdrage tot de kennis van de morfologie, systematiek en fylogenie van de *Cyperaceae* genera. PhD Thesis, Groep Plantkunde, Rijksuniversiteit Gent, Gent, Belgium.

- Goetghebeur, P. (1998). *Cyperaceae*. In: K. Kubitzki (ed.). *The families and genera of vascular plants 4, flowering plants, monocotyledons: Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)*. Berlin: Springer-Verlag, 141–190.
- Govaerts, R., Simpson, D. A., Goetghebeur, P., Wilson, K. L., Egorova, T., & Bruhl, J. (2007). *World checklist of Cyperaceae*. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond.
- Guinochet, M., & Vilmorin, R. de (1978). *Flore de France*. Fascicule 3. Pp. 1050-1051. Paris: Centre National de la Recherche Scientifique.
- Kukkonen, I. (1998). *Cyperaceae*. In : K.H. Rechinger. *Flora des Iranischen Hochlandes und der Umrahmenden Gebirge: Persien, Afghanistan, Teile Von West-Pakistan, Nord-Iraq, Azerbaidjan, Turkmenistan*.
- Larridon, I., Reynders, M., Huygh, W., Bauters, K., Van de Putte, K., Muasya, M., Boeckx, P., Simpson, D., Vrijdaghs, A., & Goetghebeur, P. (2011). Affinities in C3 *Cyperus* lineages (*Cyperaceae*) revealed using molecular phylogenetic data and carbon isotope analysis. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 167, 19–46.
- Levy, M. R. (1950). *Cyperaceae*. En: *Flora of the Cape Peninsula*. Eds: R. S. Adamson & T. M. Salter. Pp. 97–132. Juta, Cape Town, Johannesburg.
- Maire, R. (1957). *Flore de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara)*. Volume IV: *Monocotyledonae: Glumiflorae: Cyperaceae, Principes, Spathiflorae, Commelinales*. Pp. 51-54. Paris: Paul Lechevalier.
- Martín-Bravo, S., Escudero, M., Miguez, M., Jimenez-Mejías, P., & Luceño, M. (2013). Molecular and morphological evidence for a new species from South Africa: *Carex rainbowii* (*Cyperaceae*). *South African Journal of Botany*, 87, 85-91.
- Muasya, A. M. (2005). *Ficinia anysbergensis* and *F. esterhuyseniae* (*Cyperaceae*), two new species from the Cape Floristic Region of South Africa. *South African Journal of Botany*, 71, 197-200.
- Muasya, A. M., Simpson, D. A., Chase, M. W., & Culham, A. (1998). An assessment of the suprageneric phylogeny in *Cyperaceae* using rbcL DNA sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 211, 257-271.
- Muasya, A. M., Simpson, D. A., Chase, M. W., & Culham, A. (2000a). Phylogenetic relationships within the heterogeneous *Scirpus* sensu lato. (*Cyperaceae*) inferred from rbcL and trnL-F sequence data. En K. L. Wilson & D. A. Morrison (eds.), *Monocots: Systematics and Evolution*, pp. 610–614. CSIRO, Melbourne, Victoria, Australia.
- Muasya, A. M., Bruhl, J. J., Simpson, D. A., Culham, A., & Chase, M. W. (2000b). Suprageneric phylogeny of *Cyperaceae*: A combined analysis. In K. L. Wilson & D. A. Morrison, [eds.], *Monocots: Systematics and Evolution*, pp. 593–601. CSIRO, Melbourne, Victoria, Australia.
- Muasya, A. M., Simpson, D. A., Chase, M. W., & Culham, A. (2001). A phylogeny of *Isolepis* (*Cyperaceae*) inferred using plastid rbcL and trnL-F sequence data. *Systematic Botany*, 26, 342-353.
- Muasya, A. M., Simpson, D. A., & Chase, M. W. (2002). Phylogenetic relationships in *Cyperus* s.l. (*Cyperaceae*) inferred from plastid DNA sequence data. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 138, 145-153.
- Muasya, A. M., Vrijdaghs, A., Simpson, D. A., Chase, M. W., Goetghebeur, & Smets, E. (2009a). What is a Genus in *Cyperaceae*: Phylogeny, Character Homology Assessment and Generic Circumscription in *Cyperaceae*. *Botanical Review*, 75, 52-66.
- Muasya, A. M., Simpson, D. A., Verboom, G. A., Goetghebeur, P., Naczi, R. F. C., Chase, M. W. & Smets, E. (2009b). Phylogeny of *Cyperaceae* based on DNA sequence data: current progress and future prospects. *Botanical Review*, 75, 2-21.
- Muasya, A. M., & de Lange, P.J. (2010). *Ficinia spiralis* (*Cyperaceae*) a new genus and combination for *Desmoschoenus spiralis*. *New Zealand Journal of Botany*, 48, 31-39.

- Muasya, A.M., Reynders, M., Goetghebeur, P., Simpson, D. A., & Vrijdaghs, A. (2012). *Dracoscirpoides* (Cyperaceae) — A new genus from Southern Africa, its taxonomy and floral ontogeny, *South African Journal of Botany*, 78, 104-115.
- Pelser, P. B., Gravendeel, B., & Van der Meijden, R. (2002). Tackling speciose genera: Species composition and phylogenetic position of *Senecio* sect. *Jacobaea* (Asteraceae) based on plastid and nrDNA sequences. *American Journal of Botany*, 89 (6), 929-939.
- Pignatti, S. (1982). *Flora d'Italia*. Volumen 3. Bologna: Edagricole.
- Pignotti, L. (2003). *Scirpus* L. and related genera (Cyperaceae) in Italy. *Webbia*, 58 (2), 281-400.
- Quezel, P., & Santa, S. (1962). *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome I. Pp. 166-167. Paris: Centre National de la Recherche Scientifique.
- Rivas-Martinez, S. et al. (2011). Mapa de series, geoseries y geopermaseries de vegetación de España. *Itinera Geobotanica*, 18, 296-298.
- Roalson, E. H. (2005). Phylogenetic relationships in the Juncaceae inferred from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequence data. *International Journal of Plant Science*, 166 (3), 397-413.
- Roalson, E. H., & Friar, E. A. (2004). Phylogenetic relationships and biogeographic patterns in North American members of *Carex* section *Acrocystis* (Cyperaceae) using nrDNA ITS and ETS sequence data. *Plant Systematics and Evolution*, 243, 175-187.
- Séguier, J. F. (1754). *Plantae veronenses*, 3, 73. Verona.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Beck, J. T., Farmer, S. B., Liu, W., Miller, J., Siripun, K. C., Winder, C. T., Schilling, E. E., & Small, R. L. (2005). The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany*, 92 (1), 142-166.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Schilling, E. E., & Small, R. L. (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in Angiosperms: The tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, 94 (3), 275-288.
- Simpson, D. A. (1995). Relationships with *Cyperales*. In P.J. Rudall, P.J. Cribb, D.F. Cutler, C.J. Humpries (eds.), *Monocotyledons: Systematics and Evolution*, 497-509. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond.
- Simpson, D. A., & Inglis, C. A. (2001). *Cyperaceae* of economic, ethnobotanical and horticultural importance: a checklist. *Kew Bulletin*, 56, 257-360.
- Simpson, D. A., Furness, C. A., Hodkinson, T. R., Muasya, A. M., & Chase, M. W. (2003). Phylogenetic relationships in *Cyperaceae* subfamily *Mapanioideae* inferred from pollen and plastid DNA sequence data. *American Journal of Botany*, 90, 1071-1086.
- Simpson, D. A., Muasya, A. M., Alves, M. V., Bruhl, J. J., Dhooge, S., Chase, M. W., Furness, C. A., Ghamkhar, K., Goetghebeur, P., Hodkinson, T. R., Marchant, A. D., Reznicek, A. A., Nieuwborg, R., Roalson, E. H., Smets, E., Starr, J. R., Thomas, W. W., Wilson, K. L., & Zhang, X. (2007). Phylogeny of *Cyperaceae* based on DNA sequence data — a new rbcL analysis. *Aliso*, 23, 72-83.
- Soják, J. (1972a). Doplnky k nomenclature některých rodů (Phanerogamae). V *Casopise Národní Muzea*, odd. přír., 140, 127-134.
- Soják, J. (1972b). Doplnky k nomenclature některých rodů (Phanerogamae). V *Casopise Národní Muzea*, odd. přír., 141, 61-63.
- Soltis, D. E., Soltis, P. S., Nickrent, D. L., Johnson, L. A., Hahn, W. J., Hoot, S. B., Sweere, J. A., Kuzoff, R. K., Kron, K. A., Chase, M. W., Swensen, S. M., Zimmer, E. A., Chaw, S.-M., Gillespie, L. J., Kress, W. J., & Sytsma, K. J. (1997). Angiosperm phylogeny inferred from 18S ribosomal DNA sequences. *Annals of Missouri Botanic Garden*, 84, 1-49.

- Starr, J. R., Harris, S. A., & Simpson, D. A. (2003). Potential of the 5' and 3' ends of the IGS (intergenic spacer) of rDNA in the *Cyperaceae*: new sequences for lower-level phylogenies in sedges with an example from *Uncinia* Pers. *International Journal of Plant Sciences*, 164, 213-227.
- Starr, J. R., Gravel, G., Bruneau, A. & Muasya, A. M. (2007). Phylogenetic implications of a unique 5.8S nrDNA insertion in *Cyperaceae*. *Aliso*, 23, 84-98.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., & Bouvet, J. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17, 1105-1109.
- Tamura K., Nei M., & Kumar S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, 11030-11035.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., & Kumar S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28, 2731-2739.
- Van der Veken, P. (1965). Contribution à l'embryographie systématique des *Cyperaceae-Cyperoideae*. *Bulletin du jardin botanique de l'État à Bruxelles*, 35, 285-354.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, pp. 315–322. In M. Innis, D. Gelfand, J. Sninsky, & T. White [eds.], *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Yano, O., Ikeda, H., Watson, M. F., Rajbhandari, K. R., Jin, X.-F., Hoshino, T., Muasya, A. M., & Ohba, H. (2012). Phylogenetic position of the Himalayan genus *Erioscirpus* (*Cyperaceae*) inferred from DNA sequence data. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 170, 1-11.







